

窄叶鲜卑花地上部分化学成分及降血脂活性研究

刘宏栋¹, 高余英², 高琦², 周小青³, 陈杰⁴, 朱金华⁵, 李飞⁶, 李斌^{1*}

1. 江西中医药大学 院士工作站, 江西 南昌 330004

2. 宜春市第三人民医院, 江西 宜春 336000

3. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

4. 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

5. 江西中医药大学中医学院, 江西 南昌 330004

6. 四川大学华西医院 四川大学-牛津大学消化道肿瘤中心, 四川 成都 610065

摘要: 目的 研究窄叶鲜卑花 *Sibiraea angustata* 地上部分的化学成分及其体外降血脂活性。方法 采用硅胶柱色谱、ODS 反相柱色谱、半制备液相色谱等方法进行分离纯化, 利用 NMR、MS 等技术鉴定化合物结构, 再通过建立人肝癌 HepG2 细胞高脂模型测试各化合物调脂活性。结果 从窄叶鲜卑花的 95%乙醇提取物中分离得到了 21 个化合物, 分别鉴定为藜芦酸甲酯 (1)、阿魏酸甲酯 (2)、3-羟基-4-甲氧基肉桂酸甲酯 (3)、3,4,5-三甲氧基肉桂醇 (4)、对羟基桂皮酸甲酯-4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (5)、藜芦酸葡萄糖苷 (6)、aglycone (7)、aruncide A (8)、3-[(2*E*)-4-hydroxyl-4-methyl-2-pentenyl]furan-5*H*-2-one (9)、吐叶醇 (10)、蚱蜢酮 (11)、3,7-dimethyl-3(*Z*),6-octadien-5-one-1-*O*- β -D-glucoside (12)、(2*R*,3*S*,4*S*)-4-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)-2-(5-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-3-ol (13)、1,2-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,3-propanediol (14)、salicifoneoliganol (15)、herpetriol (16)、达玛烯二醇-II (17)、山楂酸甲酯 (18)、麦珠子酸 (19)、阿魏酸二十四烷酯 (20)、对羟基反式肉桂酸二十四烷基酯 (21)。结论 化合物 1~8、10、11、13~21 为首次从鲜卑花属植物中分离得到, 化合物 7、8、17、18 在体外实验中显示出降脂活性。

关键词: 窄叶鲜卑花; 藜芦酸甲酯; 阿魏酸甲酯; 达玛烯二醇-II; 山楂酸甲酯; 降血脂活性; 人肝癌 HepG2 细胞

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)14-4276-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.14.007

Chemical constituents from the aerial part of *Sibiraea angustata* and their hypolipidemic activity

LIU Hong-dong¹, GAO Yu-ying², GAO Qi², ZHOU Xiao-qing³, CHEN Jie⁴, ZHU Jin-hua⁵, LI Fei⁶, LI Bin¹

1. Academician Workstation, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Yichun Third People's Hospital, Yichun 336000, China

3. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

4. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

5. School of Traditional Chinese Medical, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

6. Gastroenterology and Hepatology, Sichuan University-Oxford University Huaxi Gastrointestinal Cancer Centre, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Abstract: Objective To study the chemical composition from the aerial part of *Sibiraea angustata* and their activity *in vitro*. **Methods** Silica gel column chromatography, ODS reversed-phase column chromatography, semi-preparative liquid chromatography were used for separation and purification. NMR, MS and other techniques were used to identify the structure of the isolated compounds, and the

收稿日期: 2021-12-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81760708); 江西省主要学科学术和技术带头人资助计划项目 (20162BCB22016); 江西省教育厅重点项目 (GJJ160809)

作者简介: 刘宏栋, 男, 讲师, 研究方向为中药药效物质基础研究。E-mail: lhd1567@163.com

*通信作者: 李斌, 女, 教授, 研究方向为中药资源开发与利用。E-mail: lbin@crjz.com

lipid-lowering activities of each compound were tested by establishing HepG2 cell hyperlipid model. **Results** Twenty-one compounds were separated from 95% ethanol extract of *Sibiraea angustata*, which were identified as methyl vertrate (**1**), (*E*)-3,4-dimethoxycinnamic acid methyl ester (**2**), (*E*)-methyl 3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) acrylate (**3**), 3,4,5-trimethoxycinnamyl alcohol (**4**), linocinnamarin (**5**), tecomin (**6**), aglycone (**7**), aruncide A (**8**), 3-[(*2E*)-4-hydroxyl - 4-methyl-2-pentenyl]furan-5*H*-2-one (**9**), vomifoliol (**10**), grasshopper ketone (**11**), 3,7-dimethyl-3(*Z*),6-octadien-5-one-1-*O*- β -*D*-glucoside (**12**), (*2R,3S,4S*)-4-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)-2-(5-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-3-ol (**13**), 1,2-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,3-propanediol (**14**), salicifoneoliganol (**15**), herpetriol (**16**), dammarenediol- II (**17**), methyl maslinat (**18**), alphitolic acid (**19**), tetracosyl ferulate (**20**), *n*-tetracosyl trans-*p*-coumarate (**21**). **Conclusion** 19 compounds (**1—8**, **10**, **11**, **13—21**) are isolated from *Sibiraea* genus for the first time; Compounds **7**, **8**, **17** and **18** showed lipid-lowering activity *in vitro*.

Key words: *Sibiraea angustata* (Rehd.) Hand. -Mazz.; methyl vertrate; (*E*)-3,4-dimethoxycinnamic acid methyl ester; dammarenediol-II; methyl maslinat; hypolipidemic; HepG2

窄叶鲜卑花 *Sibiraea angustata* (Rehd.) Hand. -Mazz. 是蔷薇科 (Rosaceae) 鲜卑花属 *Sibiraea* Maxim. 灌木, 广泛分布于我国中西部地区, 包括青海、甘肃、云南、四川和西藏等地, 生长于海拔 3000~4000 m 的山坡或砂石摊上。藏族民间通常以其叶和嫩枝入药, 俗称“柳茶”, 用于治疗消化不良及腹部不适^[1-2], 《中华本草》记载其功效为消食、理气的功效^[3]。药理学研究发现窄叶鲜卑花提取物能显著降低高脂动物模型体内的总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白和丙二醛的含量, 调节脂质代谢, 抑制体质量增加^[2-4]。前期本课题组已从窄叶鲜卑花中分离得到多个单萜苷和黄酮等化合物^[5-13], 其中单萜类为其调血脂作用的主要药效成分^[7-13]。为进一步阐明窄叶鲜卑花中的化学成分, 并寻找结构新颖、活性强的单体化合物, 本实验采用多种色谱技术对窄叶鲜卑花地上部分的 95%乙醇提取物进行研究, 分离纯化得到 21 个化合物, 分别鉴定为藜芦酸甲酯 (methyl vertrate, **1**)、阿魏酸甲酯 [(*E*)-3,4-dimethoxycinnamic acid methyl ester, **2**]、3-羟基-4-甲氧基肉桂酸甲酯 [(*E*)-methyl 3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) acrylate, **3**]、3,4,5-三甲氧基肉桂醇 (3,4,5-trimethoxycinnamyl alcohol, **4**)、对羟基桂皮酸甲酯-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (linocinnamarin, **5**)、藜芦酸葡萄糖苷 (tecomin, **6**)、aglycone (**7**)、aruncide A (**8**)、3-[(*2E*)-4-hydroxyl-4-methyl-2-pentenyl]furan-5*H*-2-one (**9**)、吐叶醇 (vomifoliol, **10**)、蚱蜢酮 (grasshopper ketone, **11**)、3,7-dimethyl-3(*Z*),6-octadien-5-one-1-*O*- β -*D*-glucoside (**12**)、(*2R,3S,4S*)-4-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)-2-(5-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-3-ol (**13**)、1,2-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,3-propanediol (**14**)、salicifoneoliganol (**15**)、herpetriol

(**16**)、达玛烯二醇-II (dammarenediol-II, **17**)、山楂酸甲酯 (methyl maslinat, **18**)、麦珠子酸 (alphitolic acid, **19**)、阿魏酸二十四烷酯 (tetracosyl ferulate, **20**)、对羟基反式肉桂酸二十四烷基酯 (*n*-tetracosyl trans-*p*-coumarate, **21**)。其中 19 个化合物 (**1—8**、**10**、**11**、**13—21**) 为首次从鲜卑花属植物中分离得到。同时, 对分离获得的化合物进行了体外降血脂药理活性评价, 化合物 **7**、**8**、**17**、**18** 在人肝癌 HepG2 细胞高脂模型中显示出降血脂活性, 其中化合物 **8**、**17** 作用最强。

1 仪器和材料

Bruker AV600 型核磁共振仪 (TMS 为内标, 德国布鲁克公司); 安捷伦 UPLC-Q-TOF-MS 超高效液相质谱联用仪质谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); LC-52 制备型液相色谱仪 (北京赛谱锐思科技有限公司); YMC-Pack ODS-A 型半制备型反相色谱柱 (250 mm×20 mm, 5 μ m, 日本 YMC 株式会社); W2-100SP 型旋转蒸发器 (上海申生科技有限公司); BSA224S-CW 型电子天平 (德国赛多利斯公司)。超净工作台 (Heraguard ECO, 赛默飞世尔科技有限公司); 细胞培养箱 (3111 型二氧化碳培养箱, 赛默飞世尔科技有限公司); 酶标仪 (ELx808 吸收光酶标仪, 美国伯腾仪器有限公司); 显微镜 (TS2 倒置生物显微镜, 尼康仪器有限公司)。

硅胶 (200~300 目, 青岛海洋化工厂); 薄层色谱硅胶板 (GF₂₅₄, 50 mm×100 mm, 青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (Amersham Pharmacia Biotech AB); YMC ODS-A-HG 反相硅胶 (日本 YMC 株式会社); 色谱甲醇 (上海星可高纯溶剂有限公司); 噻唑蓝 (MTT, 大连美伦公司), 二甲基亚砷 (DMSO, 德国 BioFroxx 公司), DMEM 高糖培养基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium,

Biological Industries), 胰蛋白酶 (Biological Industries), 磷酸缓冲盐溶液 (PBS, Biological Industries), 油红 O (北京索莱宝科技有限公司), 胎牛血清 (FBS, 美国 Gibco 公司), 青霉素、链霉素双抗 (Biological Industries), 油酸钠 (上海源叶生物科技有限公司)。非诺贝特 (A01316179), 北京百灵威科技有限公司。

实验用窄叶鲜卑花药材于 2012 年采自四川省, 经四川大学华西药学院王天志教授鉴定为蔷薇科绣线菊亚科鲜卑花属植物窄叶鲜卑花 *S. angustata* (Rehd.) Hand. -Mazz.。植物样本 (编号 001612) 保存于江西中医药大学植物标本馆。

2 提取与分离

窄叶鲜卑花地上部分 (50 kg) 经晾晒干燥、粉碎后, 用 95% 乙醇加热回流提取 2 次 (每次 150 L, 2 h), 合并提取液并减压回收乙醇, 浓缩后地粗浸膏。将粗浸膏用纯化水充分混悬, 依次使用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取。各萃取溶液经减压回收, 分别得到石油醚部位 (0.1 kg)、二氯甲烷部位 (1.7 kg)、醋酸乙酯部位 (0.2 kg)、正丁醇部位 (1.4 kg) 和水部位。

正丁醇部位 (1.0 kg) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 以二氯甲烷-甲醇 (95:5~0:100) 梯度洗脱, TLC 检测合并相同部分, 得到 6 个部位 (A~F)。其中 C 部位 (237.0 g) 经硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 二氯甲烷-甲醇 (98:2~0:100) 梯度洗脱, TLC 检测合并相同部分, 得到 4 部分 (C1~C4); C3 部分用硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 醋酸乙酯-丙酮 (100:0~0:100) 梯度洗脱, TLC 检测合并得到 5 个流分 (C3-1~C3-5), C3-1 流分 (3.0 g) 经常压柱色谱及制备 HPLC 纯化等色谱、化学分离手段得到化合物 **1** (43 mg)、**2** (15 mg)、**3** (11 mg)、**5** (9 mg)、**15** (9 mg)。C3-3 流分 (48.0 g) 经常压柱色谱及制备 HPLC 纯化等色谱、化学分离手段得到化合物 **6** (200 mg)、**8** (2.0 g)、**12** (10 mg)。

二氯甲烷部位 (1.6 kg) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 分离, 以二氯甲烷-醋酸乙酯 (100:0~0:100~甲醇) 梯度洗脱, TLC 检测合并相同部分, 得到 7 个部位 (Fr. 1~7)。流分 Fr. 2 (110.0 g) 经硅胶柱色谱得到化合物 **17** (15 mg)、**20** (500 mg)、**21** (300 mg)。流分 Fr. 5 (110.0 g) 用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-丙酮 (100:0~0:100) 梯度洗脱, TLC 检测合并得到 5 个流分 (Fr. 5-1~5-5), 所得

流分 Fr. 5-1 (2.0 g) 经硅胶柱色谱及制备 HPLC 纯化得到化合物 **4** (10 mg)、**7** (8 mg)、**9** (12 mg)。Fr. 5-2 (10.0 g) 经硅胶柱色谱和反相柱色谱及得到化合物 **18** (6.5 g)、**19** (80 mg)。流分 Fr. 5-3 (35.0 g) 经硅胶柱色谱及制备 HPLC 纯化得到化合物 **10** (4 mg)、**11** (6 mg)、**13** (8 mg)、**14** (5 mg)、**16** (20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 219.064 3 $[M + Na]^+$ (计算值 219.063 4, $C_{10}H_{12}O_4Na$), m/z 197.082 0 $[M + H]^+$ (计算值 197.081 5, $C_{10}H_{13}O_4$)。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.67 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 7.53 (1H, s, H-2), 6.88 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6), 3.93 (3H, s, 9-OCH₃), 3.92 (3H, s, 10-OCH₃), 3.88 (3H, s, 8-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 166.8 (C-7), 152.8 (C-3), 148.5 (C-4), 123.5 (C-5), 122.6 (C-1), 111.8 (C-2), 110.1 (C-6), 56.1 (9-OCH₃), 56.0 (10-OCH₃), 52.1 (8-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **1** 为芦芦酸甲酯。

化合物 **2**: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 231.063 5 $[M + Na]^+$ (计算值 231.063 2, $C_{11}H_{12}O_4Na$) 和 m/z 209.081 8 $[M + H]^+$ (计算值 209.081 3, $C_{11}H_{13}O_4$)。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.61 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 7.06 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6), 7.01 (1H, s, H-2), 6.91 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.28 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 3.91 (3H, s, 11-OCH₃), 3.78 (3H, s, 10-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.6 (C-9), 148.0 (C-4), 146.6 (C-3), 144.8 (C-7), 126.8 (C-1), 123.0 (C-6), 115.0 (C-8), 114.6 (C-5), 109.2 (C-2), 55.8 (11-OCH₃), 51.5 (10-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **2** 为阿魏酸甲酯。

化合物 **3**: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 231.063 5 $[M + Na]^+$ (计算值 231.062 1, $C_{11}H_{12}O_4Na$) 和 m/z 209.080 8 $[M + H]^+$ (计算值 209.081 3, $C_{11}H_{13}O_4$)。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.61 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 7.13 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.02 (1H, dd, $J = 1.8, 8.2$ Hz, H-6), 6.83 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.28 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 3.91 (3H, s, 11-OCH₃), 3.78 (3H, s, 10-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.6 (C-9), 148.4 (C-4), 145.7 (C-3), 144.6 (C-7), 128.0 (C-1), 121.7 (C-6), 115.7 (C-2), 115.7 (C-8), 113.0 (C-5), 56.1 (11-OCH₃), 52.5 (10-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **3** 为 3-羟

基-4-甲氧基肉桂酸甲酯。

化合物 4: 白色针晶 (二氯甲烷), mp 76~78 °C; HR-ESI-MS m/z : 247.093 1 $[M+Na]^+$ (计算值 247.094 4, $C_{12}H_{16}O_4Na$) 和 225.112 7 $[M+H]^+$ (计算值 225.112 5, $C_{12}H_{17}O_4$); 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.62 (2H, s, H-2, 6), 6.52 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7), 6.27 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-8), 4.31 (2H, d, $J=5.1$ Hz, H-9), 3.85 (6H, s, 10, 12-OCH₃), 3.83 (3H, s, 11-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 153.3 (C-3, 5), 138.1 (C-4), 132.4 (C-1), 131.1 (C-7), 128.0 (C-8), 103.5 (C-2, 6), 63.6 (C-9), 61.1 (11-OCH₃), 56.0 (10, 12-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 4 为 3,4,5-三甲氧基肉桂醇。

化合物 5: 淡黄色粉末; HR-ESI-MS m/z : 363.106 2 $[M+Na]^+$ (计算值 363.105 5, $C_{16}H_{20}O_8Na$) 和 m/z 341.123 2 $[M+H]^+$ (计算值 341.123 5, $C_{16}H_{21}O_8$); 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.75 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7), 7.57 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2, 6), 6.96 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3, 5), 6.42 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-8), 5.58 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1'), 3.85 (1H, m, H-6'a), 3.83 (3H, s, 10-OCH₃), 3.71 (1H, m, H-6'b), 3.31~3.51 (4H, m, H-2'~5'); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.4 (C-9), 163.3 (C-4), 147.4 (C-7), 131.1 (C-2, 6), 128.1 (C-1), 115.4 (C-3, 5), 115.3 (C-8), 95.7 (C-1'), 78.7 (C-5'), 78.1 (C-3'), 74.1 (C-2'), 71.0 (C-4'), 62.2 (C-6'), 55.8 (10-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 5 为对羟基桂皮酸甲酯-4- O - β - D -吡喃葡萄糖苷。

化合物 6: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 367.101 0 $[M+Na]^+$ (计算值 367.100 5, $C_{15}H_{20}O_9Na$) 和 m/z 345.117 3 $[M+H]^+$ (计算值 345.118 6, $C_{15}H_{21}O_9$); 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.65 (1H, dd, $J=1.8, 8.5$ Hz, H-6), 7.48 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2), 7.08 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5), 5.54 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1'), 3.83 (3H, s, 9-OCH₃), 3.81 (3H, s, 8-OCH₃), 3.81 (1H, m, H-6'a), 3.66 (1H, m, H-6'b), 3.12~3.50 (4H, m, H-2'~5'); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 164.4 (C-7), 148.4 (C-3), 153.3 (C-4), 123.8 (C-1), 121.2 (C-6), 112.1 (C-2), 111.1 (C-5), 94.8 (C-1'), 78.1 (C-5'), 76.3 (C-3'), 72.5 (C-2'), 69.5 (C-4'), 60.5 (C-6'), 55.7 (9-OCH₃), 55.6 (8-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 6 为藜芦酸葡萄糖苷。

化合物 7: 无色胶状物; HR-ESI-MS m/z : 205.083 3

$[M+Na]^+$ (计算值 205.084 1, $C_{10}H_{14}O_3Na$) 和 m/z 183.102 2 $[M+H]^+$ (计算值 183.102 1, $C_{10}H_{15}O_3$); 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.41 (1H, m, H-2), 5.26 (1H, m, H-6), 5.24 (1H, m, H-5), 4.56 (2H, m, H-1), 3.07 (1H, m, H-4b), 2.65 (1H, m, H-4a), 1.76 (3H, s, 8-CH₃), 1.73 (3H, s, 9-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 170.7 (C-10), 141.5 (C-2), 140.6 (C-7), 127.7 (C-3), 123.1 (C-6), 75.6 (C-5), 59.1 (C-1), 36.2 (C-4), 25.8 (8-CH₃), 18.5 (9-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 7 为 aglycone。

化合物 8: 淡黄色胶状物; HR-ESI-MS m/z : 367.136 4 $[M+Na]^+$ (计算值 367.136 9, $C_{16}H_{24}O_8Na$) 和 m/z 345.154 5 $[M+H]^+$ (计算值 345.154 9, $C_{16}H_{25}O_8$); 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 6.32 (1H, m, H-2), 5.28 (1H, m, H-6), 5.24 (1H, d, $J=8.9$ Hz, H-5), 4.73 (1H, m, H-1b), 4.67 (1H, m, H-1a), 4.17 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1'), 3.65 (1H, dt, $J=3.2, 11.3$ Hz, H-6'a), 3.43 (1H, dt, $J=5.0, 11.0$ Hz, H-6'b), 3.01~3.21 (4H, m, H-2'~5'), 2.95 (1H, t, $J=8.3$ Hz, H-4b), 2.60 (1H, m, H-4a), 1.71 (3H, s, 8-CH₃), 1.71 (3H, s, 9-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 169.2 (C-10), 139.0 (C-7), 138.7 (C-2), 126.1 (C-3), 123.5 (C-6), 102.7 (C-1'), 76.8 (C-5'), 76.6 (C-3'), 74.6 (C-5), 73.3 (C-2'), 70.0 (C-4'), 64.8 (C-1), 61.0 (C-6'), 35.0 (C-4), 25.3 (8-CH₃), 18.1 (9-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 8 为 aruncide A。

化合物 9: 无色胶状物; HR-ESI-MS m/z : 207.098 6 $[M+Na]^+$ (计算值 207.099 7, $C_{10}H_{16}O_3Na$) 和 m/z 185.116 3 $[M+H]^+$ (计算值 185.117 8, $C_{10}H_{17}O_3$); 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.71 (1H, m, H-7), 5.60 (1H, dt, $J=6.8, 15.4$ Hz, H-6), 4.31 (1H, dt, $J=3.1, 8.7$ Hz, H-4b), 4.21 (1H, dt, $J=7.0, 9.0$ Hz, H-4a), 2.61 (1H, m, H-5b), 2.55 (1H, m, H-5a), 2.34 (1H, m, H-2), 2.23 (1H, m, H-3b), 1.96 (1H, m, H-3a), 1.31 (6H, s, 9, 10-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 179.8 (C-1), 141.4 (C-7), 122.5 (C-6), 70.6 (C-8), 66.6 (C-4), 39.2 (C-2), 32.8 (C-5), 30.0 (9, 10-CH₃), 27.8 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 9 为 3-[(2E)-4-hydroxyl-4-methyl-2-pentenyl] furan-5H-2-one。

化合物 10: 无色胶状物; HR-ESI-MS m/z : 247.131 4 $[M+Na]^+$ (计算值 247.131 0, $C_{13}H_{20}O_3Na$) 和 m/z 225.149 3 $[M+H]^+$ (计算值 225.149 1, $C_{13}H_{21}O_3$); 1H -NMR (600 MHz, MeOD) δ : 5.87 (1H,

s, H-5), 5.81 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 5.76 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-7), 4.31 (1H, m, H-9), 2.47 (1H, d, $J = 16.9$ Hz, H-3b), 2.15 (1H, m, H-3a), 1.88 (3H, s, 13-OCH₃), 1.24 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, 10-OCH₃), 1.03 (3H, s, 12-OCH₃), 1.01 (3H, s, 11-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, MeOD) δ : 201.1 (C-4), 167.4 (C-6), 136.8 (C-8), 130.0 (C-7), 127.0 (C-5), 78.3 (C-1), 68.5 (C-9), 50.6 (C-3), 42.3 (C-2), 24.4 (10-CH₃), 23.7 (11-CH₃), 23.4 (12-CH₃), 19.5 (13-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 **10** 为吐叶醇。

化合物 **11**: 无色胶状物; HR-ESI-MS m/z : 247.132 4 [M+Na]⁺ (计算值 247.131 0, C₁₃H₂₀O₃Na) 和 m/z 225.148 5 [M+H]⁺ (计算值 225.149 1, C₁₃H₂₁O₃); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 5.82 (1H, s, H-8), 4.21 (1H, m, H-4), 2.19 (1H, m, H-5b), 2.18 (3H, s, 10-CH₃), 1.92 (1H, m, H-5a), 1.36 (1H, m, H-3b), 1.35 (3H, s, 11-CH₃), 1.35 (3H, s, 12-CH₃), 1.33 (1H, m, H-3a), 1.15 (3H, s, 13-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, MeOD) δ : 211.5 (C-7), 200.8 (C-9), 120.1 (C-1), 101.1 (C-7), 72.3 (C-6), 64.3 (C-4), 49.8 (C-5), 49.6 (C-3), 37.1 (C-2), 32.2 (13-CH₃), 30.7 (11-CH₃), 29.2 (12-CH₃), 26.4 (10-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **11** 为蚱蜢酮。

化合物 **12**: 无色胶状物; HR-ESI-MS m/z : 353.158 2 [M+Na]⁺ (计算值 353.157 6, C₁₆H₂₆O₇Na) 和 m/z 331.174 5 [M+H]⁺ (计算值 331.175 7, C₁₆H₂₇O₇); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 6.18 (1H, s, H-4), 6.14 (1H, s, H-6), 4.31 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.97 (1H, dt, $J = 7.0, 9.4$ Hz, H-1b), 3.86 (1H, m, H-6'a), 3.73 (1H, m, H-1a), 3.67 (1H, m, H-6'b), 3.10~3.39 (4H, m, H-2'~5'), 2.94 (2H, m, H-2), 2.13 (3H, s, 9-CH₃), 1.97 (3H, s, 10-CH₃), 1.91 (3H, s, 8-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, MeOD) δ : 192.9 (C-5), 157.0 (C-7), 156.6 (C-3), 128.3 (C-4), 127.1 (C-6), 104.2 (C-1'), 78.0 (C-5'), 77.8 (C-3'), 75.0 (C-2'), 71.5 (C-4'), 69.2 (C-1), 62.7 (C-6'), 35.1 (C-2), 27.7 (8-CH₃), 26.2 (10-CH₃), 20.7 (9-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **12** 为 3,7-dimethyl- 3(Z),6-octadien-5-one-1-O- β -D-glucoside。

化合物 **13**: 无色胶状物; HR-ESI-MS m/z : 399.142 3 [M+Na]⁺ (计算值 399.142 0, C₂₀H₂₄O₇Na) 和 m/z 377.161 7 [M+H]⁺ (计算值 377.160 0, C₂₀H₂₅O₇); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD)

δ : 6.96 (1H, s, H-6'), 6.81 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2''), 6.76 (1H, s, H-2'), 6.76 (1H, s, H-4'), 6.71 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5''), 6.70 (1H, dd, $J = 1.5, 8.1$ Hz, H-6''), 4.82 (1H, m, H-2), 3.85 (3H, s, 7'-OCH₃), 3.84 (3H, s, 7''-OCH₃), 3.80 (2H, d, $J = 11.3$ Hz, H-3a), 3.66 (2H, dd, $J = 5.5, 8.3$ Hz, H-5), 3.11 (1H, dd, $J = 3.3, 13.0$ Hz, H-4a₂), 2.58 (1H, m, H-4), 2.48 (1H, t, $J = 12.7$ Hz, H-4a₁); ¹³C-NMR (150 MHz, MeOD) δ : 149.1 (C-3''), 148.5 (C-5'), 147.2 (C-3'), 145.8 (C-4''), 133.2 (C-1''), 130.6 (C-1'), 122.1 (C-6''), 121.4 (C-2'), 116.1 (C-4'), 115.5 (C-5''), 113.3 (C-2''), 112.6 (C-6'), 85.5 (C-2), 83.1 (C-3), 71.8 (C-5), 64.4 (C-3a), 56.2 (7'-OCH₃), 56.2 (7''-OCH₃), 51.8 (C-4), 35.1 (C-4a)。以上数据与文献报道一致^[26], 故鉴定化合物 **13** 为 (2R,3S,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)-2-(5-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-3-ol。

化合物 **14**: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 357.132 3 [M+Na]⁺ (计算值 357.131 4, C₁₈H₂₂O₆Na) 和 m/z 335.148 2 [M+H]⁺ (计算值 335.149 5, C₁₈H₂₃O₆); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 6.68 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5''), 6.65 (1H, m, H-6''), 6.64 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2''), 6.61 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.61 (1H, dd, $J = 1.7, 8.0$ Hz, H-6'), 4.91 (1H, m, H-1), 3.80 (1H, dd, $J = 5.0, 11.1$ Hz, H-4b), 3.74 (3H, s, 7'-OCH₃), 3.68 (3H, m, 7''-OCH₃), 3.67 (1H, m, H-2), 3.51 (1H, dd, $J = 6.0, 11.1$ Hz, H-4a), 2.91 (2H, m, H-3); ¹³C-NMR (150 MHz, MeOD) δ : 148.4 (C-3'), 148.3 (C-3''), 146.5 (C-4'), 146.1 (C-4''), 136.3 (C-1'), 132.1 (C-1''), 123.2 (C-6''), 120.2 (C-6'), 115.6 (C-5'), 115.3 (C-5''), 114.4 (C-2''), 111.5 (C-2'), 75.4 (C-1), 64.4 (C-3), 56.7 (C-2), 56.2 (7''-OCH₃), 56.1 (7'-OCH₃), 54.7 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **14** 为 1,2-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,3-propanediol。

化合物 **15**: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 399.142 1 [M+Na]⁺ (计算值 399.142 0, C₂₀H₂₄O₇Na) 和 m/z 377.161 3 [M+H]⁺ (计算值 377.160 0, C₂₀H₂₅O₇); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.64 (2H, s, H-2, 6), 6.52 (1H, s, H-2'), 6.47 (1H, s, H-6'), 5.36 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 3.72 (1H, m, H-9b), 3.72 (6H, s, 10, 11-OCH₃), 3.68 (1H, m, H-9a), 2.43 (2H, m, H-7'), 1.63 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (150 MHz,

DMSO- d_6) δ : 147.8 (C-3, 5), 144.5 (C-4'), 140.6 (C-3'), 135.1 (C-1'), 134.8 (C-4), 131.7 (C-1), 129.1 (C-5'), 115.6 (C-6'), 114.8 (C-2'), 103.6 (C-2, 6), 86.7 (C-7), 63.0 (C-9), 60.1 (C-9'), 56.1 (10, 11-OCH₃), 53.5 (C-8), 34.6 (C-8'), 31.2 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[28], 故鉴定化合物 **15** 为 salicifoneoliganol。

化合物 **16**: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 561.211 5 [M+Na]⁺ (计算值 561.210 0, C₃₀H₃₄O₉Na) 和 m/z 539.226 4 [M+H]⁺ (计算值 539.228 1, C₃₀H₃₅O₉); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 6.93 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-2'), 6.81 (1H, dd, J = 1.5, 8.1 Hz, H-6''), 6.71~6.74 (5H, m, H-2, 5, 6, 2'', 5''), 5.48 (1H, d, J = 6.2 Hz, H-7''), 4.73 (1H, dd, J = 6.4, 8.1 Hz, H-7'), 3.84 (3H, s, 10'-OCH₃), 3.83 (3H, s, 10''-OCH₃), 3.80 (3H, s, 10-OCH₃), 3.62 (1H, m, H-8''); ¹³C-NMR (150 MHz, MeOD) δ : 149.0 (C-3'), 149.0 (C-3''), 147.7 (C-3), 147.5 (C-4'), 147.0 (C-4''), 145.3 (C-4), 135.6 (C-1''), 135.4 (C-1'), 134.6 (C-1), 130.0 (C-5'), 119.7 (C-6), 119.7 (C-6''), 118.2 (C-5''), 116.1 (C-6'), 116.0 (C-5), 114.2 (C-2), 110.5 (C-2''), 110.4 (C-2'), 89.0 (C-7''), 84.0 (C-7'), 73.4 (C-9), 64.8 (C-9''), 60.4 (C-9'), 56.7 (10-OCH₃), 56.7 (10'-OCH₃), 56.3 (10''-OCH₃), 55.3 (C-8''), 54.0 (C-8'), 44.0 (C-8), 33.8 (C-7)。以上数据与文献报道一致^[29], 故鉴定化合物 **16** 为 herpetriol。

化合物 **17**: 无色针晶 (二氯甲烷), mp 130~133 °C; HR-ESI-MS m/z : 467.387 5 [M+Na]⁺ (计算值 467.386 5, C₃₀H₅₂O₂Na) 和 m/z 445.403 4 [M+H]⁺ (计算值 445.404 5, C₃₀H₅₃O₂); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 5.08 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-24), 3.16 (1H, dd, J = 11.1, 5.0 Hz, H-3), 1.65 (3H, s, 26-CH₃), 1.61 (3H, s, 27-CH₃), 1.09 (3H, s, 21-CH₃), 0.93 (3H, s, 18-CH₃), 0.92 (3H, s, 19-CH₃), 0.83 (3H, s, 28-CH₃), 0.82 (3H, s, 29-CH₃), 0.73 (3H, s, 30-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 131.5 (C-25), 124.6 (C-24), 78.9 (C-3), 75.3 (C-20), 55.7 (C-5), 50.5 (C-9), 50.2 (C-14), 49.8 (C-17), 42.2 (C-13), 40.4 (C-22), 40.3 (C-8), 38.9 (C-1), 38.9 (C-4), 37.0 (C-10), 35.1 (C-7), 31.1 (C-15), 28.1 (28-CH₃), 27.4 (C-12), 27.3 (C-2), 25.6 (26-CH₃), 25.3 (21-CH₃), 24.7 (C-16), 22.4 (C-23), 21.4 (C-11), 18.2 (C-6), 17.6 (27-CH₃), 16.3 (30-CH₃), 16.1 (19-CH₃), 15.4 (18-CH₃), 15.3 (29-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[30], 故鉴定化合物 **17** 为达玛烯二醇-II。

化合物 **18**: 白色无定形粉末; HR-ESI-MS m/z : 509.361 5 [M+Na]⁺ (计算值 509.360 7, C₃₁H₅₀O₄Na) 和 m/z 487.377 2 [M+H]⁺ (计算值 487.378 7, C₃₁H₅₁O₄); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 5.26 (1H, brs, H-12), 3.68 (1H, m, H-2), 3.61 (3H, s, 31-OCH₃), 3.01 (1H, d, J = 9.3 Hz, H-3), 2.85 (1H, m, H-18), 1.11 (3H, s, 30-CH₃), 1.02 (3H, s, 24-CH₃), 0.96 (3H, s, 25-CH₃), 0.91 (3H, s, 27-CH₃), 0.90 (3H, s, 23-CH₃), 0.81 (3H, s, 26-CH₃), 0.70 (3H, s, 29-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 180.3 (C-28), 143.5 (C-13), 122.4 (C-12), 84.1 (C-3), 68.9 (C-2), 55.2 (C-5), 50.8 (31-OCH₃), 47.5 (C-9), 46.3 (C-17), 46.2 (C-1), 45.7 (C-19), 41.6 (C-14), 41.0 (C-18), 39.2 (C-8), 39.0 (C-4), 38.2 (C-10), 33.7 (C-21), 33.0 (29-CH₃), 32.4 (C-7), 32.3 (C-22), 30.6 (C-20), 28.5 (23-CH₃), 27.5 (C-15), 25.8 (27-CH₃), 23.4 (30-CH₃), 23.3 (C-16), 23.0 (C-11), 18.2 (C-6), 17.0 (26-CH₃), 16.6 (24-CH₃), 16.6 (25-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[31], 故鉴定化合物 **18** 为山楂酸甲酯。

化合物 **19**: 无色晶体 (二氯甲烷), mp 232~234 °C; HR-ESI-MS m/z : 495.344 5 [M+Na]⁺ (计算值 495.345 0, C₃₀H₄₈O₄Na) 和 m/z 473.362 3 [M+H]⁺ (计算值 473.363 1, C₃₀H₄₉O₄); ¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 4.67 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-29a), 4.55 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-29b), 3.61 (1H, m, H-2), 2.98 (1H, m, H-19), 2.96 (1H, m, H-3), 1.65 (3H, s, 30-CH₃), 0.96 (3H, s, 24-CH₃), 0.95 (3H, s, 25-CH₃), 0.90 (3H, s, 27-CH₃), 0.87 (3H, s, 23-CH₃), 0.76 (3H, s, 26-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 180.4 (C-28), 150.3 (C-20), 109.8 (C-29), 84.0 (C-3), 69.3 (C-2), 56.4 (C-7), 56.3 (C-17), 55.5 (C-5), 50.5 (C-9), 49.3 (C-18), 47.1 (C-19), 46.8 (C-1), 42.5 (C-14), 40.8 (C-8), 39.2 (C-4), 38.6 (C-13), 38.4 (C-10), 37.1 (C-22), 32.2 (C-16), 30.6 (C-15), 29.7 (C-21), 28.5 (23-CH₃), 25.4 (C-12), 21.0 (C-11), 19.4 (30-CH₃), 18.4 (C-6), 17.4 (25-CH₃), 16.6 (24-CH₃), 16.1 (26-CH₃), 14.7 (27-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[32], 故鉴定化合物 **19** 为麦珠子酸。

化合物 **20**: 白色无定形粉末; EI-MS m/z : 530 [M]⁺; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.61 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7), 7.06 (1H, dd, J = 1.8, 8.1 Hz, H-6), 7.02 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.90 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.28 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-8), 4.17 (2H, t, J = 6.7 Hz,

H-10), 3.92 (3H, s, 34-OCH₃), 1.00~2.00 (22H, m, H-11~32), 0.87 (3H, t, $J=7.0$ Hz, H-33); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 167.4 (C-9), 148.1 (C-3), 146.8 (C-4), 144.7 (C-7), 127.1 (C-1), 123.1 (C-6), 115.7 (C-5), 114.7 (C-8), 109.3 (C-2), 64.7 (C-10), 56.0 (34-OCH₃), 28.1~30.0 (C-13~31), 26.0 (C-12), 22.7 (C-32), 14.2 (C-33)。以上数据与文献报道基本一致^[33-34], 故鉴定化合物 **20** 为阿魏酸二十四烷酯。

化合物 **21**: 白色无定形粉末; EI-MS m/z : 500 [M]⁺; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.60 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7), 7.42 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3, 5), 6.29 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8), 4.16 (2H, t, $J=6.7$ Hz, -OCH₂), 3.92 (3H, s, 34-OCH₃), 1.69 (2H, m, OCH₂CH₂), 1.25 [(42H, br, (CH₂)₂₁], 0.87 (3H, t, $J=7.0$ Hz, 33-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 167.6 (C-9), 157.6 (C-4), 144.3 (C-7), 130.0 (C-2, 6), 127.4 (C-1), 116.1 (C-3, 5), 115.8 (C-8), 64.7 (C-10), 29.4~30.0 (C-13~31), 28.8 (C-11), 26.0 (C-12), 22.7 (C-32), 14.2 (33-CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[35], 故鉴定化合物 **21** 为对羟基反式肉桂酸二十四烷基酯。

4 降脂活性筛选

4.1 对 HepG2 细胞的毒性

采用 MTT 法测定化合物对 HepG2 细胞株的毒性作用。HepG2 细胞株 (美国菌种保藏管理中心) 使用 DMEM 高糖培养基 (含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素) 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的环境下培养。当细胞密度达到 70%~80%, 用胰蛋白酶消化后将细胞分散, 使成为密度为 5 \times

10⁴ 个/mL 的细胞悬液, 以每孔 200 μ L 接种于 96 孔板。待细胞贴壁后, 按对照组、实验组, 分别给予 5% DMSO 溶液和化合物溶液 (各化合物用 5% DMSO 溶液配制成 100、10、1 μ mol/L), 放入培养箱中培养 24 h 后取出, 避光环境下在每孔中加入 MTT 试剂 (5 mg/mL) 10 μ L, 摇匀后于培养箱中静置 4 h, 取出, 弃上清, 在每孔中加入 DMSO 液 200 μ L, 振摇 (37 $^{\circ}$ C、10 min、600 r/min), 使用酶标仪在 25 $^{\circ}$ C、570 nm 下测定吸光度 (A) 值。研究结果显示, 化合物 **17** (达玛烯二醇-II)、**18** (山楂酸甲酯) 在 100 μ mol/L 浓度下对 HepG2 细胞有显著的毒性作用, 其余化合物在 100、10、1 μ mol/L 浓度下对 HepG2 细胞 24 h 存活率均大于 90%, 综合考虑选取 10 μ mol/L 浓度用于后续的活性研究, 结果见表 1。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白基质}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白基质}})$$

4.2 体外降脂活性

HepG2 细胞使用 DMEM 高糖培养基 (含 10% 胎牛血清, 100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素) 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的环境下培养。当细胞密度达到 70%~80%, 用胰蛋白酶消化后将细胞分散, 使成为密度为 5 \times 10⁴ 个/mL 的细胞悬液, 以每孔 200 μ L 接种于 96 孔板。待细胞贴壁后, 将每孔中培养基换为 200 μ L 无血清 DMEM 培养基, 饥饿培养 12 h 后, 除对照组外, 模型组、阳性对照组和样品组的无血清培养基换为 200 μ L 含 0.5 mmol/L 油酸钠的 DMEM 培养基 (无血清), 样品组给予各化合物样品 (10 μ mol/L)、阳性对照组给予非诺贝特 (10 μ mol/L), 继续培养 24 h 后弃去上清液, PBS 清洗

表 1 不同浓度的化合物对 HepG2 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Effect of different compound concentrations on the survival rate of HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	细胞存活率/%		
	100 μ mol \cdot L ⁻¹	10 μ mol \cdot L ⁻¹	1 μ mol \cdot L ⁻¹
对照	100.00 \pm 1.41		
2	103.32 \pm 3.19	98.08 \pm 2.34	98.28 \pm 5.71
7	103.81 \pm 3.00	93.95 \pm 3.02	93.22 \pm 2.10
8	102.93 \pm 13.16	94.31 \pm 4.75	94.16 \pm 2.88
17	24.92 \pm 2.22***	103.18 \pm 5.84	106.88 \pm 8.13
18	27.73 \pm 5.35***	105.47 \pm 5.96	101.22 \pm 7.63
19	109.83 \pm 8.20	108.35 \pm 3.44	102.96 \pm 14.19

与对照组比较: *** $P<0.001$

*** $P<0.001$ vs control group

2次,每次0.5 mL;每孔加入4%多聚甲醛0.5 mL,室温下静置15 min后弃去,PBS清洗2次,每次0.5 mL;在每孔中加入油红O工作液0.5 mL,染色15 min后弃去;0.5 mL PBS清洗2次后,加DMSO 200 μ L溶解,震荡(25 $^{\circ}$ C、5 min、600 r/min),使用酶标仪在25 $^{\circ}$ C,515 nm波长下测定吸光度(A)值。

油酸(oleic acid, OA)是一种单不饱和Omega-9脂肪酸,是脂肪酸合成的最终产物,人体的肝脂肪变性与过量油酸的积累有关^[36-37],HepG2细胞是人肝癌细胞系,但具有糖脂代谢等正常的生理功能,是国际公认的研究降血脂作用的细胞系,且易于培养^[38-40],油酸诱导HepG2细胞与脂肪性肝细胞的形态相似^[41-42]。本实验根据课题组前期体外高脂模型研究结果^[13],使用0.5 mmol/L油酸诱导的HepG2高脂模型测定化合物的降脂活性,体外活性测定结果显示(表2):单萜类化合物7(aglycone)、8

表2 化合物在油酸诱导的HepG2高脂模型中的降脂作用结果($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Results of lipid-lowering action of the compound in a model of HepG2 hyperlipidemia induced by oleic acid ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	A 值
对照	0.40 \pm 0.01
模型	1.00 \pm 0.06 ^{###}
阳性对照(非诺贝特)	0.78 \pm 0.05 ^{**}
2	0.93 \pm 0.06
7	0.77 \pm 0.04 ^{***}
8	0.81 \pm 0.03 ^{**}
17	0.69 \pm 0.06 ^{***}
18	0.83 \pm 0.08 [*]
19	0.93 \pm 0.11

与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

(aruncide A)与三萜类化合物17(达玛烯二醇-II)、18(山楂酸甲酯)在10 μ mol/L浓度下均显示出较好的降脂活性,数据结果与模型组对比具有显著性差异,其中化合物8、17在所筛选化合物中降脂作用最好。化合物2(阿魏酸甲酯)和19(麦珠子酸)则没有显示出降脂活性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 王佳冰,柴成奎,陈平,等.藏药柳茶提取物对单纯性肥胖大鼠脂质代谢的影响[J].中药新药与临床药理,2010,21(2):148-149.

[2] 夏苗,王晶宇,马晓燕,等.藏药柳茶提取物调节肥胖大鼠脂代谢的作用机制研究[J].中药材,2011,34(6):922-926.

[3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草-9[M].上海:上海科学技术出版社,1999:288.

[4] 姚莉,焦海胜,李晓强.柳茶对高脂血症大鼠血脂、超氧化物歧化酶及丙二醛的影响[J].兰州大学学报:医学版,2010,36(2):68-70.

[5] 姚争争,刘德鸿,陈笑天,等.窄叶鲜卑花地上部分化学成分研究[J].中国药学杂志,2018,53(4):263-267.

[6] 王章伟,徐向红,陈笑天,等.窄叶鲜卑花地上部分化学成分研究[J].中药材,2014,37(1):57-60.

[7] Ito Y, Kamo S, Sadhu S K, et al. Structure of new monoterpene glycoside from *Sibiraea angustata* RCHD. and its anti-obestic effect [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2009, 57(3): 294-297.

[8] Li B, Chen X T, Wang Z W, et al. Two new monoterpenes and one dicaffeic acid ester from *Sibiraea angustata* with hypolipidemic activities in HepG2 cells *in vitro* [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 13: 319-323.

[9] Li B, Lee J B, Hayashi K, et al. Two new monoterpenes from *Sibiraea angustata* [J]. *J Nat Med*, 2010, 64(1): 89-92.

[10] Wang Z W, Li B, Yu S S, et al. Eight new monoterpene acylglucosides from *Sibiraea angustata* [J]. *Phytochem Lett*, 2013, 6(3): 461-466.

[11] Yao Z Z, Liu H D, Chen X T, et al. Three new monoterpene glucosides and one new sorbitol ester identified from *Sibiraea angustata* with hypolipidemic activities in HepG2 cells [J]. *Phytochem Lett*, 2017, 21: 118-122.

[12] Yao Z Z, Liu H D, Xu X H, et al. Three new monoterpene glucosides from *Sibiraea angustata* [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(21): 2453-2459.

[13] Liu H D, Zhang T, Jiang P, et al. Hypolipidemic constituents from the aerial portion of *Sibiraea angustata* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, 30(11): 127161.

[14] 魏金霞,李丹毅,华会明,等.金莲花化学成分的分离与鉴定(II)[J].沈阳药科大学学报,2012,29(1):12-15.

[15] 陈雯,唐生安,秦楠,等.牛尾菜抗氧化活性成分研究[J].中国中药杂志,2012,37(6):806-810.

[16] Yavari I, Djahaniani H, Moradi L, et al. Triphenylphosphine-mediated serendipitous synthesis of alkyl cinnamates through the reaction of 3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde and dialkyl acetylenedicarboxylates [J]. *ChemInform*, 2005, 36(51): 2149-2153.

- [17] Feliciano A S, Medarde M, Lopez J L, *et al.* Two new cinnamyl isovalerate derivatives from *Juniperus thurifera* leaves [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(4): 677-679.
- [18] 刘金俊, 杨印军, 朱寅荻, 等. 两色金鸡菊中 1 个新的没药烷型倍半萜类化合物 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(11): 2132-2137.
- [19] Jia X C, Yang D, Xie H H, *et al.* Non-flavonoid phenolics from *Averrhoa carambola* fresh fruit [J]. *J Funct Foods*, 2017, 32: 419-425.
- [20] Ito Y, Kamo S, Sadhu S K, *et al.* Structure of new monoterpene glycoside from *Sibiraea angustata* RCHD. and its anti-obestic effect [J]. *Chem Pharm Bull*, 2009, 57(3): 294-297.
- [21] Granica S, Fusani P, Stanisławska I, *et al.* Monoterpenoids from the traditional North Italian vegetable *Aruncus dioicus* (Walter) Fernald var. *vulgaris* (Maxim.) H.Hara (Rosaceae) [J]. *Food Chem*, 2017, 221: 1851-1859.
- [22] Deng Y, Zhao J Q, Mei L J, *et al.* Two new monoterpenes from *Sibiraea laevigata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2017, 19(9): 877-883.
- [23] Hammami S, Ben Jannet H, Bergaoui A, *et al.* Isolation and structure elucidation of a flavanone, a flavanone glycoside and vomifoliol from *Echiochilon fruticosum* growing in Tunisia [J]. *Molecules*, 2004, 9(7): 602-608.
- [24] Yan Z H, Han Z Z, Hu X Q, *et al.* Chemical constituents of *Euonymus alatus* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(2): 340-342.
- [25] Takeda Y, Fukumoto K, Tachibana M, *et al.* Monoterpene glucosides having a cross conjugated dienone system from *Spiraea cantoniensis* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(5): 1591-1593.
- [26] Li X W, Guo Z T, Zhao Y, *et al.* Chemical constituents from *Saussurea cordifolia* [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(5/6): 682-687.
- [27] Yoshikawa K, Mimura N, Arihara S. Isolation and absolute structures of enantiomeric 1, 2-bis (4-hydroxy- 3-methoxyphenyl)-1, 3-propanediol 1-O-glucosides from the bark of *Hovenia trichocarpa* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(9): 1137-1139.
- [28] 颜世达, 姚慧丽, 张英华, 等. 柳叶绣线菊化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2806-2811.
- [29] Xiao H H, Dai Y, Wong M S, *et al.* New lignans from the bioactive fraction of *Sambucus williamsii* Hance and proliferation activities on osteoblastic-like UMR106 cells [J]. *Fitoterapia*, 2014, 94: 29-35.
- [30] 王锦亮, 李兴从, 熊江, 等. 云南羯布罗香树脂的化学成分 [J]. 云南植物研究, 1991, 13(3): 335-340.
- [31] 魏建国, 杨大松, 杨永平, 等. 草鞋木的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(11): 1789-1792.
- [32] 王玘玮, 罗晓东, 姜北. 尖山橙枝叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(4): 653-657.
- [33] 朱华勇, 吴娟, 黄帅, 等. 马尿泡化学成分的研究 [J]. 华西药理学杂志, 2011, 26(4): 305-307.
- [34] 王路, 孙睿, 徐萌, 等. 阿魏化学成分、药理作用及毒理研究进展 [J]. 世界中医药, 2020, 15(24): 3887-3894.
- [35] 舒莹, 郭顺星, 陈晓梅, 等. 金钗石斛化学成分的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2004, 40(6): 21-22.
- [36] Araya J, Rodrigo R, Videla L A, *et al.* Increase in long-chain polyunsaturated fatty acid n - 6/n - 3 ratio in relation to hepatic steatosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2004, 106(6): 635-643.
- [37] Cui W, Chen S L, Hu K Q. Quantification and mechanisms of oleic acid-induced steatosis in HepG2 cells [J]. *Am J Transl Res*, 2010, 2(1): 95-104.
- [38] 王凯, 王中红, 李芳萍, 等. 孔石莼多糖及其硫酸酯化衍生物降血脂机制的体外研究 [J]. 中国海洋药物, 2018, 37(2): 81-87.
- [39] 刘金凤, 彭红丽. 黄芩苷对链脲佐菌素诱导的糖尿病模型大鼠血糖和血脂及腺苷酸活化蛋白激酶的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25(2): 145-150.
- [40] Vidyashankar S, Sharath Kumar L M, Barooah V, *et al.* Liv.52 up-regulates cellular antioxidants and increase glucose uptake to circumvent oleic acid induced hepatic steatosis in HepG2 cells [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(13): 1156-1165.
- [41] Okamoto Y, Tanaka S, Haga Y. Enhanced *GLUT2* gene expression in an oleic acid-induced *in vitro* fatty liver model [J]. *Hepatol Res*, 2002, 23(2): 138-144.
- [42] Janorkar A V, King K R, Megeed Z, *et al.* Development of an *in vitro* cell culture model of hepatic steatosis using hepatocyte-derived reporter cells [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2009, 102: 1466-1474.

[责任编辑 王文倩]