

河朔莼花枝叶中激活潜伏 HIV 的活性成分研究

魏云霞^{1,2}, 王修艺^{1,2}, 王雯皓^{1,2}, 张立伟¹, 李石飞^{1*}

1. 山西大学 分子科学研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 山西 太原 030006

2. 山西大学 中医药现代研究中心, 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: 目的 研究河朔莼花 *Wikstroemia chamaedaphne* 枝叶中具有激活潜伏人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 的活性成分。方法 运用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱和制备型 HPLC 等方法进行分离纯化; 通过高分辨质谱、核磁、圆二色谱等光谱技术进行化合物结构鉴定; 采用萤火虫荧光素酶报告基因试剂盒评价化合物对人宫颈癌 HeLa-NH2 细胞激活潜伏 HIV-1 病毒的活性。结果 从河朔莼花枝叶甲醇提取部位分离鉴定出 13 个化合物, 包括 2 个甾类化合物: 2,20-dihydroxyspregna-1,4-diene-3-one (1)、2-hydroxypregna-1,4-diene-3,20-dione (2); 7 个木脂素类化合物: 松脂素 (3)、连翘脂素 (4)、acutissimalignan B (5)、罗汉松脂素 (6)、3,4-二香草基四氢呋喃 (7)、2,6,2',6'-tetramethoxy-4,4'-bis (2,3-epoxy-1-hydroxypropyl) biphenyl (8)、薄荷醇 (9) 和 4 个其他类型化合物: 邻苯二甲酸二辛酯 (10)、1-linolenoylglycerol (11)、2-linolenoylglycerol (12)、4'-carbomethoxy-2'-hydroxyphenyl ferulate (13)。对 HeLa-NH2 细胞激活潜伏 HIV-1 病毒的活性结果表明, 化合物 6、10~12 在 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 的激活倍数为 28.2~38.9 倍, 阳性对照药 prostratin 激活倍数为 40.0 倍。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为河朔莼花孕甾酮 A, 化合物 2 为新天然产物, 化合物 4、5、7~13 首次从莼花属中分离得到。13 个化合物均为首次从河朔莼花中分离得到。化合物 6、10~12 表现出较好的激活潜伏 HIV 活性。

关键词: 河朔莼花; 人类免疫缺陷病毒; 潜伏激活剂; 河朔莼花孕甾酮 A; 连翘脂素; 罗汉松脂素; bis (2-ethylhexyl) phthalate; 1-linolenoylglycerol; 2-linolenoylglycerol

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)02-0465-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.02.014

Active components of latent HIV activation in leaves and branches of *Wikstroemia chamaedaphne*

WEI Yun-xia^{1,2}, WANG Xiu-yi^{1,2}, WANG Wen-hao^{1,2}, ZHANG Li-wei¹, LI Shi-fei¹

1. Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering Ministry of Education, Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Shanxi Key Laboratory of Active Constituents Research and Utilization of TCM, Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective To study the active ingredients in the branches and leaves of Heshuorahua (*Wikstroemia chamaedaphne*) that have activated latent human immunodeficiency virus (HIV). **Methods** A combination of silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography and preparative HPLC were used for the separation and purification; The compounds were structurally characterized by high-resolution mass spectrometry, nuclear magnetic and circular dichroism spectroscopy; And a firefly luciferase reporter gene kit was used to evaluate the activity of the compounds in activating latent HIV-1 virus in human cervical cancer HeLa-NH2 cells. **Results** A total of 13 compounds were isolated and identified, including two steroids, seven lignans and four other compounds and were identified as: 2,20-dihydroxyspregna-1,4-diene-3-one (1), 2-hydroxypregna-1,4-diene-3-dione (2), (+)-pinoresinol (3), phillygenin (4), acutissimalignan B (5), (-)-matairesinol (6), 3,4-divanillyltetrahydrofuran (7), 2,6,2',6'-tetramethoxy-4,4'-bis (2,3-epoxy-1-hydroxypropyl) biphenyl (8), (+)-piperitol (9), bis (2-ethylhexyl) phthalate (10), 1-linolenoylglycerol (11), 2-linolenoylglycerol (12), 4'-carbomethoxy-2'-hydroxyphenyl ferulate (13). Compared with the control group, the fold change of these

收稿日期: 2022-09-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31800293); 山西科技攻关项目 (201603D3113008, 2016ZD0504, 202203021211290)

作者简介: 魏云霞 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。Tel: 18234506713 E-mail: 2019170060@qq.com

*通信作者: 李石飞, 副教授, 主要从事天然药物化学生物学及中药资源学研究。E-mail: lisf@sxu.edu.cn

compounds in activating latent HIV at 10.0 $\mu\text{mol/L}$ concentration was 28.2—38.9, and the fold change of positive control prostratin was 40.0. **Conclusion** Compound 1 is a new compound and compound 2 is a new natural product. Compounds 4, 5, 7—13 are obtained from the genus *Wikstroemia* for the first time. All compounds are isolated for the first time from *W. chamaedaphne*. In addition, all compounds were tested to activate latent HIV in HeLa-NH2 cell model. The results showed that compounds 6, 10—12 showed significant activation of latent HIV.

Key words: *Wikstroemia chamaedaphne* Meissn.; human immunodeficiency virus; latency reactivation agent; progesterone A; phillygenin; (–)-matairesinol; bis (2-ethylhexyl) phthalate; 1-linolenoylglycerol; 2-linolenoylglycerol

艾滋病是由于人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 引起的感染性疾病, 是历史上最严重的传染性疾病之一, 目前主要治疗手段是高效抗逆转录病毒疗法 (highly active antiretroviral therapy, HAART)。然而, HAART 疗法不能根除 HIV-1 病毒, 临床中也表现出明显的不良反应和耐药毒株^[1]。一旦停止治疗, 病毒载量会迅速反弹, 这主要是由于一部分 HIV-1 感染机体后会稳定持续地存在于一些静息型的 CD4⁺ T 细胞内, 形成潜伏病毒储存库^[2-5]。随着对 HIV-1 潜伏感染的建立及维持机制的深入研究, 有学者提出“shock and kill”的治疗策略, 即通过潜伏感染激活剂 (latency reactivation agent, LRA) 激活潜伏的 HIV 使之发生转录, 然后与 HAART 联合使用, 并结合细胞的自身免疫监视系统, 从而实现清除 HIV-1 病毒潜伏库^[6-8]。

河朔莞花 *Wikstroemia chamaedaphne* Meissn. 是瑞香科莞花属植物, 北方主要分布于山西及周围省份, 南方主要分布于湖南附近^[9]。河朔莞花的花蕾, 俗称黄芩花, 最早在宋代《图经本草》中记载^[10], 《本草纲目》中描述为“莞者, 饶也, 其花繁饶也”, 其花、叶、籽、根和皮都可药用^[11]。其花蕾作为传统中药主要用于泻下逐水和通便, 还可用于治疗急慢性传染性肝炎、精神分裂症^[12]、癫痫及抗早孕^[13]等。

课题组前期从河朔莞花花蕾中分离得到具有显著激活潜伏 HIV 病毒活性的二萜类成分, 且这类成分显示出多种激活机制^[14-15]。为了深入和系统研究河朔莞花中激活潜伏 HIV 活性成分, 本研究以河朔莞花枝叶作为研究对象, 对其成分和激活潜伏 HIV 活性进行了研究。从河朔莞花枝叶中共分离并鉴定了 13 个化合物, 其中包括 2 个甾类化合物: 2,20-dihydroxypregna-1,4-diene-3-one (1)、2-hydroxypregna-1,4-diene-3,20-dione (2); 7 个木脂素类化合物: 松脂素 [(+)-pinoresinol, 3]、连翘脂素 (phillygenin, 4)、acutissimalignan B (5)、罗汉松脂素 [(–)-matairesinol, 6]、3,4-二香草基四氢呋喃 (3,4-divanillyltetrahydrofuran, 7)、2,6,2',6'-tetramethoxy-

4,4'-bis (2,3-epoxy-1-hydroxypropyl) biphenyl (8)、薄荷醇 [(+)-piperitol, 9] 和 4 个其他类型化合物: 邻苯二甲酸二辛酯 [bis (2-ethylhexyl) phthalate, 10]、1-linolenoylglycerol (11)、2-linolenoylglycerol (12)、4'-carbomethoxy-2'-hydroxyphenyl ferulate (13)。其中化合物 1 为新化合物, 命名为河朔莞花孕甾酮 A, 化合物 2 为新天然产物, 化合物 4、5、7~13 为首次从莞花属中分离得到, 这 13 个化合物均为首次从该植物中分离得到。此外, 以人宫颈癌 HeLa-NH2 细胞测试 13 个化合物激活潜伏 HIV 的作用, 结果显示浓度为 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 6、10~12 的激活倍数为 28.2~38.9 倍, 阳性对照药 prostratin 激活倍数为 40.0 倍。

1 仪器与材料

Bruker-600 超导核磁共振光谱仪 (Bruker 公司); Thermo Scientific Q Exactive 液质联用仪 (美国 Thermo 公司); C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm ; 250 mm×10.0 mm, 5 μm)、安捷伦 1200 型高效液相色谱仪、安捷伦 1260 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); YRDL-20/10 型低温冷却循环泵 (巩义市予华仪器公司); 薄层硅胶 GF₂₅₄、柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); ODS-AM (YMC 公司); Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (GE 公司); IKA HB10 型恒温水浴锅、IKA HB10 型旋转蒸发仪 (德国 IKA 公司); Advantage A10 Milli-Q 型纯水仪 (Millipore 公司); Nikon TS100 型倒置和荧光显微镜 (上海尼康公司); LDZX-30KBS 型高压灭菌锅 (上海申安公司); HF clean 1300 型超净工作台 (上海力康公司); 奥豪斯 B710801129 型分析天平 (美国奥豪斯公司)。

色谱纯甲醇、乙腈购自 Thermo 公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团; 萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒 (批号 RG005) 购自上海碧云天生物技术有限公司; CCK-8 试剂盒 (批号 MA0218-2-AUG-14H) 购自日本 DOJINDO 公司; FBS 胎牛血清 (批号 22090701)、DMEM 培养基 (批号 8122500) 购

自以色列 BI 公司; 青霉素-链霉素 (批号 MA0110-Aug-10H)、胰蛋白酶 (批号 17B12B65)、PBS 缓冲液粉末购自北京索莱宝科技有限公司; prostratin (批号 sc-203422) 购自北京安诺伦生物科技有限公司; 白色细胞培养板购自美国 Corning 公司; 透明细胞培养板购自无锡 NEST 公司。

河朔堇花于 2018 年 10 月采自山西省绛县, 经山西大学黄土高原研究所张峰教授鉴定为瑞香科植物河朔堇花 *W. chamaedaphne* Meissn. 的枝叶, 标本 (SXJX-201810) 存放于山西大学分子科学研究所。

2 提取与分离

取河朔堇花枝叶 10.0 kg, 阴干后粉碎, 用 8 倍量的甲醇回流提取 2 次, 提取液减压浓缩至 5 L, 加入等体积氯仿溶解来调节极性, 离心 3 次, 每次 15 min, 取上清液减压浓缩得浸膏 1.8 kg。浸膏经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (1:1)、醋酸乙酯、氯仿-甲醇 (1:1)、甲醇依次洗脱, 得到 4 个流分 Fr. 1~4。Fr. 1 (293.7 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (4:1~0:5) 进行梯度洗脱, 得到 5 个亚流分 (A~E)。C (12.4 g) 经硅胶柱色谱进行分离, 以甲醇-水为洗脱剂进行梯度洗脱得到 (C1~7), C2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿-甲醇 1:1) 纯化后得到 C2.1~C2.4, C2.2 再经半制备 HPLC (DAD 检测器, 检测波长为 230 nm, 70% 甲醇, 2 mL/min) 制备得到化合物 1 (5.0 mg, t_R =18 min)、2 (8.4 mg, t_R =33 min); C2.3 经半制备 HPLC (DAD 检测器, 检测波长为 210 nm, 43% 甲醇, 2 mL/min) 制备得到化合物 3 (5.0 mg, t_R =13 min)、4 (5.0 mg, t_R =25 min), C2.4 再经半制备 HPLC (DAD 检测器, 检测波长为 210 nm, 55% 甲醇, 2 mL/min) 制备得到化合物 5 (5.0 mg, t_R =12 min)、6 (5.0 mg, t_R =20 min)、7 (5.0 mg, t_R =29 min)。C3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇-水 9:1) 纯化后得到化合物 8 (10.5 mg), 其余部分再经半制备 HPLC (DAD 检测器, 检测波长为 210、230 nm, 67% 甲醇, 2 mL/min) 制备得到化合物 9 (11.0 mg, t_R =17 min)、13 (25.7 mg, t_R =31 min), C6 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇-水 9:1) 纯化后再经半制备 HPLC (DAD 检测器, 检测波长为 210、230、254、280 nm, 85% 甲醇, 2 mL/min) 制备得到化合物 10 (5.0 mg, t_R =9 min)、11 (5.0 mg, t_R =15 min)、12 (6.2 mg, t_R =24 min)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色油状物, $[\alpha]_D^{25}$ -16.71 (c 0.09, CH₃OH), IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3407, 2926, 2854, 1640, 1456, 1260, 1101, 884。根据 HR-ESI-MS m/z : 353.208 8 [M+Na]⁺ (计算值为 353.450 9), 得到分子式为 C₂₁H₃₀O₃, 不饱和度为 7。在 ¹H-NMR 图谱中, 高场区明显存在 2 个甲基单峰信号 δ_H 0.82 (3H, s), 1.24 (3H, s), 1 个甲基双峰信号 δ_H 1.14 (3H, d, J =6.0 Hz); 在低场区有 2 个烯烃氢信号 δ_H 6.17 (1H, s), 6.33 (1H, s); 此外, 在 δ_H 1.00~2.50 存在 1 个连续的重叠峰, 推测其是由于次甲基和亚甲基质子信号相互重叠造成的。¹³C-NMR 图谱显示共有 21 个碳信号, 结合 HSQC 图谱推断结构中包含 1 个羰基信号峰 δ_C 181.7; 2 组双键信号峰 δ_C 173.3, 146.1, 124.6, 121.0; 3 个甲基峰 δ_C 23.8, 19.7, 12.5; 1 个连氧的 sp³ 杂化次甲基信号峰 δ_C 70.4; 6 个 sp³ 亚甲基信号峰 δ_C 39.6, 34.1, 33.0, 25.6, 24.7, 23.2; 4 个 sp³ 杂化次甲基信号峰 δ_C 58.3, 55.0, 53.7, 35.3; 以及 2 个 sp³ 杂化季碳信号峰 δ_C 44.2, 42.8。化合物 1 的不饱和度扣除 1 个羰基和 2 组双键所占据的 3 个不饱和度后还剩下 4 个不饱和度, 表明结构中还有 4 个环存在, 推测化合物 1 可能是 1 个 C₂₁ 甾体化合物。进一步通过 2D-NMR (图 1) 波谱数据分析, 确认化合物 1 为 C₂₁ 甾体化合物, 且 A 环存在 2 组 α 、 β -不饱和酮结构。同时通过 H-1 和 H-4 与 C-2 的 HMBC 相关, 可以确认 C-2 存在 1 个羟基取代。此外, H₃-21 和 H-17 与 δ_H 3.72 不仅存在 H-H 相关, 还存在相应的碳氢相关, 同时 δ_H 3.72 与 C-13 和 C-16 也存在 HMBC 相关, 因此 C-21 应该存在 1 个羟基取代。在 ROESY 谱, 可观察到 H-8 与 H₃-19 和 H₃-18, H₃-18 与 H₃-21 的相关, 表明 H-8、H₃-19 和 H₃-18 在同侧, 定为 β 构型; 而 H-14 与 H-9 和 H-17 的相关, 则表明 H-14、H-9 和 H-17 在平面的另一侧, 定为 α 构型。由于 C₁₇-C₂₀ 键可自由旋转, 无法通过 ROESY 信号确定 C-20 位 OH 的相对构型, 同时由于获得该化合物的量较少导致无法获得其晶体, 因此本研究只确定了 C-20 位 OH 的平面结构。化合物 1 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据见表 1。将化合物 1 鉴定为 2,20-dihydroxyspregna-1,4-diene-3-one, 经检索为新化合物, 命名为河朔堇花孕甾酮 A。

化合物 2: 无色油状物, 根据 HR-ESI-MS m/z : 351.193 2 [M+Na]⁺ (计算值为 351.434 9), 得到分子式为 C₂₁H₂₈O₃, 不饱和度为 8。化合物 2 的

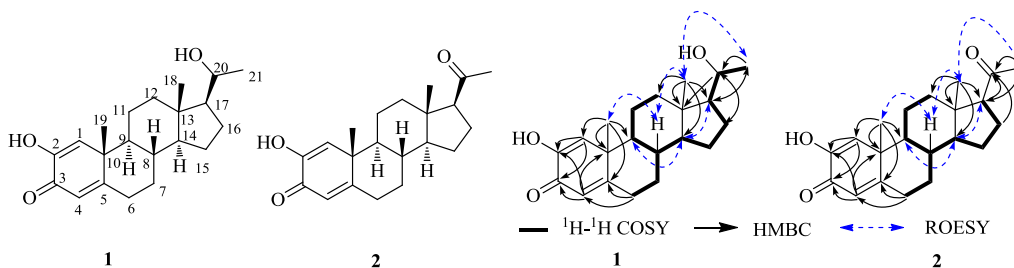


图 1 化合物 1 和 2 的结构及重要的二维 NMR 相关图

Fig. 1 Structure and key 2D NMR data of compounds 1 and 2

表 1 化合物 1 和 2 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (600/150 MHz, CDCl_3)Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compounds 1 and 2 (600/150 MHz, CDCl_3)

碳位	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	6.33 (s)	124.6	6.32 (s)	124.1
2		146.1		146.2
3		181.7		181.6
4	6.17 (s)	121.0	6.18 (s)	121.1
5		173.3		172.8
6	2.45 (m)	33.0	2.45 (overlapped)	32.9
7	1.03 (overlapped), 1.96 (m)	34.1	1.08 (m), 1.99 (m)	33.9
8	1.60 (overlapped)	35.3	1.61 (dd, $J = 3.6, 10.8$ Hz)	35.4
9	1.03 (overlapped)	53.7	1.05 (td, $J = 4.2, 11.4, 23.4$ Hz)	53.5
10		44.2		44.1
11	1.19 (overlapped), 1.66 (m)	25.6	1.69 (overlapped), 1.82 (m)	23.3
12	1.19 (overlapped), 1.64 (m)	24.7	1.43 (td, $J = 4.2, 13.2, 25.8$ Hz), 2.08 (m)	38.6
13		42.8		44.2
14	1.00 (overlapped)	55.0	1.12 (m)	55.7
15	1.22 (d, $J = 4.8$ Hz), 2.14 (m)	39.6	1.29 (m), 1.69 (m)	24.6
16	1.70 (overlapped)	23.2	1.69 (m), 2.19 (m)	22.9
17	1.32 (q, $J = 9.0, 18.6$ Hz)	58.3	2.52 (overlapped)	63.4
19	1.24 (s)	19.7	1.24 (s)	19.7
18	0.82 (s)	12.5	0.69 (s)	13.5
20	3.72 (m)	70.4		209.1
21	1.14 (d, $J = 6.0$ Hz)	23.8	2.12 (s)	31.5

^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (表 1) 与化合物 1 的数据极其相似,除了在 ^{13}C -NMR 谱中缺少 1 个 δ_{C} 70.4 的羟基信号,多了 1 个 δ_{C} 209.1 的羰基信号,进一步由 $\text{H}_3\text{-21}$ 和 H-17 与 C-20 的 HMBC 相关,表明化合物 2 的结构是化合物 1 的氧化产物。通过检索,发现化合物 2 在 1966 年已被合成过,并报道了其结构^[16-17]。故化合物 2 鉴定为 2-hydroxypregna-1,4-diene-3,20-dione。本研究是首次从植物中发现,表明

化合物 2 为新的天然产物,并且本研究首次全面报道其 NMR 数据。

化合物 3: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 359.140 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.94 (1H, s, H-2), 6.76 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.81 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 4.70 (1H, s, H-7), 3.14 (1H, s, H-8), 4.23 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-9a), 3.78 (1H, m, H-9b), 3.85 (3H, s, 3-OMe), 6.94

(1H, s, H-2'), 6.76 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.81 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 4.70 (1H, s, H-7'), 3.14 (1H, s, H-8'), 4.23 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-9'a), 3.78 (1H, m, H-9'b), 3.85 (3H, s, 3'-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 133.6 (C-1), 110.7 (C-2), 148.9 (C-3), 147.1 (C-4), 115.9 (C-5), 119.9 (C-6), 87.3 (C-7), 55.2 (C-8), 72.4 (C-9), 56.2 (3-OMe), 133.6 (C-1'), 110.7 (C-2'), 148.9 (C-3'), 147.1 (C-4'), 115.9 (C-5'), 119.9 (C-6'), 87.3 (C-7'), 55.2 (C-8'), 72.4 (C-9'), 56.2 (3'-OMe)。以上数据与文献对照一致^[18], 故鉴定化合物 **3** 为松脂素。

化合物 **4**: 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 371.410 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.91 (1H, m, H-2), 6.87 (1H, m, H-5), 6.88 (1H, m, H-6), 4.43 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-7), 2.91 (1H, m, H-8), 4.13 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-9), 6.91 (1H, m, H-2'), 6.87 (1H, m, H-5'), 6.88 (1H, m, H-6'), 4.87 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-7'), 3.35 (1H, m, H-8'), 3.83 (2H, m, H-9'), 3.89 (3H, s, 3-OMe), 3.90 (3H, s, 3'-OMe), 3.91 (3H, s, 4'-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 133.0 (C-1), 108.9 (C-2), 148.0 (C-3), 145.4 (C-4), 114.3 (C-5), 119.3 (C-6), 87.8 (C-7), 54.6 (C-8), 71.0 (C-9), 131.0 (C-1'), 108.6 (C-2'), 148.9 (C-3'), 148.0 (C-4'), 111.0 (C-5'), 117.7 (C-6'), 82.1 (C-7'), 50.2 (C-8'), 69.8 (C-9'), 56.0 (3-OMe), 56.0 (3'-OMe), 56.0 (4'-OMe)。以上数据与文献对照一致^[19], 故鉴定化合物 **4** 为连翘脂素。

化合物 **5**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 357.301 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 3.81 (1H, m, H-3), 4.27 (2H, d, $J = 3.6$ Hz, H-4), 3.06 (1H, dd, $J = 14.4, 3.6$ Hz, H-5a), 2.62 (1H, dd, $J = 13.8, 10.2$ Hz, H-5b), 7.52 (1H, s, H-6), 7.03 (1H, s, H-2'), 6.99 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.21 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.64 (1H, s, H-2''), 6.86 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5''), 6.71 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6''), 3.91 (3H, s, 3'-OMe), 3.86 (3H, s, 3'-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.9 (C-1), 125.6 (C-2), 39.8 (C-3), 69.8 (C-4), 37.4 (C-5), 137.5 (C-6), 126.6 (C-1'), 112.7 (C-2'), 147.7 (C-3'), 146.8 (C-4'), 115.0 (C-5'), 124.0 (C-6'), 129.8 (C-1''), 111.6 (C-2''), 146.8 (C-3''), 144.7 (C-4''), 114.7 (C-5''), 121.3 (C-6''), 56.0 (3'-OMe), 55.9 (3'-OMe)。以上数据与文献对照一致^[20], 故鉴定化合物 **5** 为 acutissimalign B。

化合物 **6**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z :

359.301 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.65 (1H, m, H-2), 2.47 (1H, m, H-3), 3.92 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-4a), 4.15 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-4b), 2.51 (2H, m, H-5), 2.81 (1H, m, H-6a), 2.87 (1H, m, H-6b), 6.57 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2'), 6.69 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-5'), 6.50 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6'), 6.66 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-2''), 6.70 (1H, s, H-5''), 6.57 (1H, m, H-6''), 3.77 (3H, s, 3'-OMe), 3.78 (3H, s, 3''-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 181.5 (C-1), 47.5 (C-2), 42.3 (C-3), 72.7 (C-4), 38.7 (C-5), 35.1 (C-6), 131.3 (C-1'), 113.0 (C-2'), 148.8 (C-3'), 146.1 (C-4'), 115.9 (C-5'), 122.0 (C-6'), 130.6 (C-1''), 113.6 (C-2''), 148.8 (C-3''), 146.2 (C-4''), 115.9 (C-5''), 122.8 (C-6''), 56.1 (3'-OMe), 56.1 (3''-OMe)。以上数据与文献对照一致^[21], 故鉴定化合物 **6** 为罗汉松脂素。

化合物 **7**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 345.301 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_5$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.49 (1H, s, H-3), 6.58 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 6.79 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6), 2.57 (1H, dd, $J = 13.2, 6.6$ Hz, H-7a), 2.52 (1H, dd, $J = 13.8, 7.2$ Hz, H-7b), 2.17 (1H, m, H-8), 3.92 (1H, m, H-9a), 3.53 (1H, m, H-9b), 3.81 (3H, s, 2-OMe), 6.49 (1H, s, H-3'), 6.58 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6'), 2.57 (1H, dd, $J = 13.2, 6.6$ Hz, H-7'a), 2.52 (1H, dd, $J = 13.8, 7.2$ Hz, H-7'b), 2.17 (1H, m, H-8'), 3.92 (1H, m, H-9'a), 3.53 (1H, m, H-9'b), 3.81 (3H, s, 2'-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 143.9 (C-1), 146.4 (C-2), 111.1 (C-3), 132.3 (C-4), 121.4 (C-5), 114.1 (C-6), 39.2 (C-7), 46.5 (C-8), 73.3 (C-9), 55.8 (2-OMe), 143.9 (C-1'), 146.4 (C-2'), 111.1 (C-3'), 132.3 (C-4'), 121.4 (C-5'), 114.1 (C-6'), 39.2 (C-7'), 46.5 (C-8'), 73.3 (C-9'), 55.8 (2'-OMe)。以上数据与文献对照一致^[22], 故鉴定化合物 **7** 为 3,4-二香草基四氢呋喃。

化合物 **8**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 418.161 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.58 (4H, s, H-3, 3', 5, 5'), 5.52 (2H, brs, OH-7, 7'), 4.73 (2H, d, $J = 3.0$ Hz, H-7, 7'), 4.28 (2H, m, H-9b, 9b'), 3.90 (14H, overlapped, H-9a, 9a', 2, 2', 6, 6'-OMe), 3.10 (2H, m, H-8, 8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 54.5 (C-8, 8'), 56.5 (3, 3', 5, 5'-OMe), 71.9 (C-9, 9'), 86.1 (C-7, 7'), 102.9 (C-3, 3', 5, 5'), 132.2 (C-1, 1'), 134.5 (C-4, 4'), 147.3 (C-2, 2', 6, 6')。以上数据与文献对照一致^[23], 故鉴定化合物

8 为 2,6,2',6'-tetramethoxy-4,4'-bis-(2,3-epoxy-1-hydroxypropyl) biphenyl。

化合物 **9**: 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 356.124 7 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{20}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.77~6.89 (6H, overlapped, H-2, 2', 5, 5', 6, 6'), 4.72 (2H, m, H-2, 6), 4.24 (2H, m, H-4b, 8b), 3.87 (2H, m, H-4a, 8a), 3.08 (2H, m, H-1, 5), 5.95 (2H, s, $-OCH_2O$), 5.64 (1H, s, $-OH$), 3.90 (3H, s, 3'-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 54.2 (C-1), 85.8 (C-2), 71.7 (C-4), 54.3 (C-5), 85.8 (C-6), 71.7 (C-8), 132.9 (C-1'), 108.6 (C-2'), 147.1 (C-3'), 145.3 (C-4'), 114.3 (C-5'), 119.0 (C-6'), 135.1 (C-1''), 106.5 (C-2''), 146.7 (C-3''), 148.0 (C-4''), 108.2 (C-5''), 119.3 (C-6''), 101.0 ($-OCH_2O-$), 55.9 (3'-OMe)。以上数据与文献对照一致^[24], 故鉴定化合物 **9** 为薄荷醇。

化合物 **10**: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 413.159 8 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{24}H_{38}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.71 (1H, dd, $J = 4.8, 3.0$ Hz, H-2), 7.62 (1H, dd, $J = 4.8, 3.0$ Hz, H-3), 4.21 (1H, m, H-6), 1.68 (1H, m, H-7), 1.34 (2H, m, H-8), 1.43 (2H, m, H-9), 1.37 (2H, m, H-10), 0.94 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-11), 1.36 (2H, m, H-12), 0.92 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-13), 7.71 (1H, dd, $J = 4.8, 3.0$ Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, $J = 4.8, 3.0$ Hz, H-3'), 4.21 (1H, m, H-6'), 1.68 (1H, m, H-7'), 1.34 (2H, m, H-8'), 1.43 (2H, m, H-9'), 1.37 (2H, m, H-10'), 0.94 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-11'), 1.36 (2H, m, H-12'), 0.92 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-13'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 133.4 (C-1), 129.7 (C-2), 132.2 (C-3), 169.1 (C-4), 68.9 (C-6), 40.0 (C-7), 31.4 (C-8), 29.9 (C-9), 24.7 (C-10), 14.2 (C-00), 23.9 (C-12), 11.2 (C-13), 133.4 (C-1'), 129.7 (C-2'), 132.2 (C-3'), 169.1 (C-4'), 68.9 (C-6'), 40.0 (C-7'), 31.4 (C-8'), 29.9 (C-9'), 24.7 (C-10'), 14.2 (C-11'), 23.9 (C-12'), 11.2 (C-13')。以上数据与文献对照一致^[25], 故鉴定化合物 **10** 为邻苯二甲酸二辛酯。

化合物 **11**: 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z : 353.301 5 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{36}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.34 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2), 1.61 (2H, m, H-3), 1.30 (2H, m, H-4), 1.30 (2H, m, H-5), 1.30 (2H, m, H-6), 1.30 (2H, m, H-7), 2.05 (2H, m, H-8), 5.34 (1H, m, H-9), 5.34 (1H, m, H-10), 2.79 (2H, m, H-11), 5.34 (1H, m, H-12), 5.34 (1H, m, H-13), 2.79 (2H, m, H-14), 5.34 (1H, m, H-15), 5.34 (1H, m, H-16),

2.05 (2H, m, H-17), 0.97 (3H, t, $J = 7.8$ Hz, H-18), 4.13 (1H, dd, $J = 11.4, 7.2$ Hz, H-1'a), 4.05 (1H, dd, $J = 11.4, 7.2$ Hz, H-1'b), 3.91 (1H, d, $J = 13.2$ Hz, H-2'), 3.80 (1H, dd, $J = 5.4, 3.0$ Hz, H-3'a), 3.54 (1H, dd, $J = 5.4, 3.0$ Hz, H-3'b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 175.3 (C-1), 34.7 (C-2), 25.8 (C-3), 30.0 (C-4), 30.0 (C-5), 30.5 (C-6), 30.5 (C-7), 28.0 (C-8), 132.5 (C-9), 128.7 (C-10), 26.2 (C-11), 128.9 (C-12), 129.0 (C-13), 26.3 (C-14), 128.0 (C-15), 130.9 (C-16), 21.3 (C-17), 14.5 (C-18), 66.3 (C-1'), 70.9 (C-2'), 63.9 (C-3')。以上数据与文献对照一致^[26], 故鉴定化合物 **11** 为 1-linolenoylglycerol。

化合物 **12**: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 353.301 5 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{36}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.36 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2), 1.29 (2H, m, H-3), 2.07 (2H, m, H-4), 2.07 (2H, m, H-5), 2.07 (2H, m, H-6), 2.07 (2H, m, H-7), 2.07 (2H, m, H-8), 5.29 (1H, m, H-9), 5.29 (1H, m, H-10), 2.07 (2H, m, H-11), 5.29 (1H, m, H-12), 5.29 (1H, m, H-13), 2.07 (2H, m, H-14), 5.29 (1H, m, H-15), 5.29 (1H, m, H-16), 1.68 (2H, m, H-17), 0.96 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-18), 4.91 (1H, q, $J = 4.9$ Hz, H-1'), 3.81 (1H, t, $J = 4.6$ Hz, H-2'a), 2.79 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-2'b), 3.81 (1H, t, $J = 4.6$ Hz, H-3'a), 2.79 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-3'b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 175.1 (C-1), 34.9 (C-2), 26.3 (C-3), 30.5 (C-4), 30.1 (C-5), 30.1 (C-6), 30.0 (C-7), 28.0 (C-8), 132.5 (C-9), 128.0 (C-10), 26.2 (C-11), 129.0 (C-12), 130.4 (C-13), 25.8 (C-14), 128.7 (C-15), 130.8 (C-16), 21.3 (C-17), 14.5 (C-18), 76.3 (C-1'), 61.5 (C-2'), 61.4 (C-3')。以上数据与文献对照一致^[27], 故鉴定化合物 **12** 为 2-linolenoylglycerol。

化合物 **13**: 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 344.066 8 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{18}H_{16}O_7$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.08 (1H, s, H-2), 6.87 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.94 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.55 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.22 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H-8), 7.61 (1H, s, H-3'), 7.53 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 3.81 (3H, s, 1''-OMe), 3.88 (3H, s, 4-OMe); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 127.1 (C-1), 114.1 (C-2), 146.9 (C-3), 149.2 (C-4), 114.7 (C-5), 122.4 (C-6), 145.5 (C-7), 115.3 (C-8), 167.8 (C-9), 143.6 (C-1'), 144.2 (C-2'), 116.4 (C-3'), 122.1 (C-4'), 123.5 (C-5'), 114.7 (C-6'), 168.6 (C-1''),

51.8 (1"-OMe), 52.1 (4-OMe)。以上数据与文献对照一致^[28], 故鉴定化合物 **13** 为 4'-carbomethoxy-2'-hydroxyphenyl ferulate。

4 细胞毒和激活潜伏 HIV 病毒活性检测

采用萤火虫荧光素酶报告基因试剂盒测定 13 个化合物对 HeLa-NH2 细胞激活潜伏 HIV-1 病毒的活性。

HeLa-NH2 细胞经消化制备成 1×10^5 个/mL 的细胞悬液, 以 100.0 μ L/孔接种于 96 孔板中, 设置不加细胞的空白组、不加样品的对照组及给药组, 每组设 3 个平行。待 12 h 细胞贴壁后, 给药组加入 10 μ mol/L 待测样品液 (课题组前期筛选结果显示 10 μ mol/L 时药效最好), 继续培养 24 h 后, 在避光环境下每孔中加入 10.0 μ L CCK-8 试剂, 置 37 $^{\circ}$ C 培养箱避光孵育 2 h, 取出摇匀, 在酶标仪上检测 450 nm 处的吸光度 (*A*) 值。按照以下公式计算其细胞存活率。结果表明给药组细胞存活率均 $\geq 90\%$, 进一步使用该浓度进行激活潜伏 HIV 病毒活性检测。结果见图 2。

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

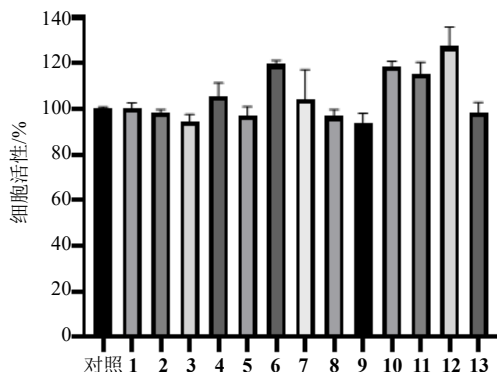


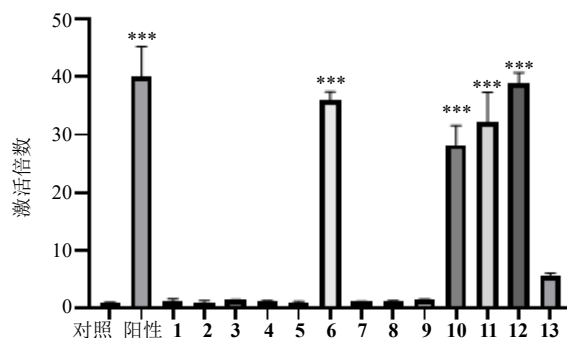
图2 化合物1~13对HeLa-NH2细胞毒性测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Results of toxicity assay of compound 1—13 on HeLa-NH2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

HeLa-NH2 细胞经消化制备成 1×10^5 个/mL 的细胞悬液, 以 100.0 μ L/孔接种于 96 孔板中, 设置不加样品的对照组、给药 (10 μ mol/L) 组及阳性药 (prostratin, 10 μ mol/L) 组, 每组设 3 个平行。待 12 h 细胞贴壁后加入待测样品液 (细胞活性 $\geq 90\%$ 时的样品浓度), 继续培养 12 h, 采用萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒, 按说明书进行操作, 检测 13 个化合物对 HeLa-NH2 细胞潜伏 HIV 病毒的激活水平, 计算样品对潜伏 HIV 病毒激活倍数。结果

见图 3。

由图 3 可见, 所有化合物在 10.0 μ mol/L 均未表现出细胞毒性, 并且化合物 **6**、**10**~**12** 在 10.0 μ mol/L 时, 其激活潜伏 HIV 的活性为 28.2~38.9 倍 ($P < 0.001$), 表现出较好的激活活性, 阳性药 prostratin 显示出的激活活性为 40.0 倍 ($P < 0.001$)。



与对照组比较: *** $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs control group

图3 化合物激活潜伏 HIV 活性测定结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Results of compound-activated latent HIV activity assay ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

5 讨论

HIV 是导致人类罹患艾滋病的主要原因。虽然 HAART 法可以最大限度的抑制 HIV 复制, 有效降低血浆病毒载量, 但是由于病毒潜伏库的存在导致该疾病无法得到根治是当前面临的巨大挑战。据报道, 目前天然产物来源的 LRA 种类繁多, 但未见有木脂素类的报道。该研究发现木脂素类成分具有一定的激活潜伏 HIV 的活性, 表明河朔莞花中除二萜之外的部分木脂素类成分也是具有一定的激活潜伏 HIV 活性的, 也为扩大新药源奠定了基础。本研究仅在 HeLa-NH2 细胞进行了活性评价, 后续将采用多种细胞对其进行活性评价, 并进一步研究其激活潜伏 HIV 的作用机制, 为更好地开发利用河朔莞花提供理论依据。此外, 本研究只确定了化合物 **1** C-20 位 OH 的平面结构, 后续将继续富集该样品, 通过化学计算、X-Ray 等方法确定其立体构型。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Beyrer C, Pozniak A. HIV drug resistance-an emerging threat to epidemic control [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(17): 1605-1607.
- [2] Chun T W, Moir S, Fauci A S. HIV reservoirs as obstacles

- and opportunities for an HIV cure [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(6): 584-589.
- [3] Abbas W, Herbein G. Molecular understanding of HIV-1 latency [J]. *Adv Virol*, 2012, 2012: 574967.
- [4] Cary D C, Fujinaga K, Peterlin B M. Molecular mechanisms of HIV latency [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(2): 448-454.
- [5] 张淼, 于祯钰. 新形势下中医药防治艾滋病的思考 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(8): 1316-1319.
- [6] Dahabieh M S, Battivelli E, Verdin E. Understanding HIV latency: The road to an HIV cure [J]. *Annu Rev Med*, 2015, 66: 407-421.
- [7] Darcis G, van Driessche B, van Lint C. HIV latency: Should we shock or lock? [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(3): 217-228.
- [8] Kim Y, Anderson J L, Lewin S R. Getting the “kill” into “shock and kill”: Strategies to eliminate latent HIV [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(1): 14-26.
- [9] 张志强, 李石飞, 张立伟, 等. 黄芩花化学成分及其抗乙肝病毒作用 [J]. *中草药*, 2017, 48(7): 1292-1297.
- [10] 苏颂. 本草图经 [M]. 尚志钧辑校. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994: 375-376.
- [11] 李时珍. 本草纲目 (第三册) [M]. 点校本. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 1850-1856.
- [12] 吴凤简, 陶成, 赵惠兰, 等. 黄芩花水提物的中枢药理作用 [J]. *中草药*, 1993, 24(10): 528-531.
- [13] 王振海, 陈文磊, 应国华. 黄芩花醇液引产机理的探讨 [J]. *中华妇产科杂志*, 1979, 14(1-4): 125-126.
- [14] 王修艺, 焦莹莹, 张立伟, 等. 天然产物人类免疫缺陷病毒-1 (HIV-1) 潜伏激活剂的研究进展 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4410-4421.
- [15] Li S F, Liang X, Wu X K, *et al.* Discovering the mechanisms of wikstroelide E as a potential HIV- latency-reversing agent by transcriptome profiling [J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(4): 1022-1033.
- [16] Yoshida K, Kubota T. Studies on A-norsteroids. V. reaction of steroidal diosphenols with manganese dioxide [J]. *Chem Pharm Bull*, 1966, 14(12): 1370-1377.
- [17] Ma E, Choi T. An efficient 4 β -hydroxylation of steroidal 5-en-3 β -ols and 1,4-conjugation of steroidal 4-en-3-ones using SeO₂ oxidation [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2009, 30(1): 245-248.
- [18] In S J, Seo K H, Song N Y, *et al.* Lignans and neolignans from the stems of *Viburnum erosum* and their neuroprotective and anti-inflammatory activity [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(1): 26-34.
- [19] Kwak J H, Kang M W, Roh J H, *et al.* Cytotoxic phenolic compounds from *Chionanthus retusus* [J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(12): 1681-1687.
- [20] Tuchinda P, Kornsakulkarn J, Pohmakotr M, *et al.* Dichapetalin-type triterpenoids and lignans from the aerial parts of *Phyllanthus acutissima* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(4): 655-663.
- [21] Youssef D, Frahm A W. Constituents of the Egyptian *Centaurea Scoparia*. III. Phenolic constituents of the aerial parts [J]. *Planta Med*, 1995, 61(6): 570-573.
- [22] Sy L K, Brown G D. Novel phenylpropanoids and lignans from *Illicium verum* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(8): 987-992.
- [23] Day S H, Wang J P, Won S J, *et al.* Bioactive constituents of the roots of *Cynanchum atratum* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(5): 608-611.
- [24] Terreaux C, Maillard M, Hostettmann K, *et al.* Analysis of the fungicidal constituents from the bark of *Ocotea usambarensis* Engl. (Lauraceae) [J]. *Phytochem Anal*, 1994, 5(5): 233-238.
- [25] Chang R J, Wang C H, Zeng Q, *et al.* Chemical constituents of the stems of *Celastrus Rugosus* [J]. *Arch Pharm Res*, 2013, 36(11): 1291-1301.
- [26] Lee S J, Jang H J, Kim Y, *et al.* Inhibitory effects of IL-6 induced STAT3 activation of bio-active compounds derived from *Salvia plebeia* R.Br [J]. *Process Biochem*, 2016, 51(12): 2222-2229.
- [27] Ogihara T, Amano N, Mitsui Y, *et al.* Determination of the absolute configuration of a monoglyceride antibolting compound and isolation of related compounds from radish leaves (*Raphanus sativus*) [J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(4): 872-878.
- [28] Siddiqui B S, Aslam H, Begum S, *et al.* New cinnamic acid esters from *Ocimum basilicum* [J]. *Nat Prod Res*, 2007, 21(8): 736-741.

[责任编辑 王文倩]