

倒心盾翅藤藤茎的化学成分研究

党竹楠¹, 韩玉^{1#}, 张雅琦¹, 阮静雅², 张倩倩¹, 王涛^{1,2}, 张祎^{1,2*}

1. 天津中医药大学 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 301617

2. 天津中医药大学 组分中药国家重点实验室, 天津 301617

摘要: 目的 对倒心盾翅藤 *Aspidopterys obcordata* 藤茎的化学成分进行研究。方法 采用正相硅胶、反相 ODS、MCI gel CHP 20P 等柱色谱及制备高效液相色谱等分离方法进行分离纯化, 运用旋光、核磁共振、质谱和圆二色光谱等多种波谱学技术鉴定化合物的化学结构; 并采用一水草酸钙结晶 (COM) 诱导的大鼠肾小管上皮 NRK-52E 细胞损伤模型, 对分离得到的单体成分进行活性筛选, 初步探讨各单体成分对 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的保护作用。结果 从倒心盾翅藤藤茎 70% 乙醇提取物中分离得到 17 个化合物, 分别鉴定为槲皮素 (1)、(+)-儿茶素 (2)、异黄酮香豆素 (3)、龙脑苷 (4)、大柱香波龙烷-9-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (5)、长春花糖苷 II (6)、2,3-*seco*-sonderianol (7)、木栓酮 (8)、2 α ,3 β ,23-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸 (9)、(24*S*)-24-乙基胆甾-3 β ,5 α ,6 β -三醇 (10)、辛酸单甲酯 (11)、1-壬二酸甘油酯 (12)、(9*S*,10*E*,12*S*,13*S*)-9,12,13-三羟基-10-十八碳烯酸 (13)、(9*S*,10*E*,12*S*,13*S*,15*Z*)-三羟基十八烷-10,15-二烯酸 (14)、异丙醇-[6-*O*-(β -*D*-木糖基)]- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (15)、3,4-二羟基苯甲酰胺 (16) 和 4'-*O*-(β -*D*-吡喃葡萄糖基)-维生素 B5 (17)。结论 化合物 3~5、7、9~17 共 13 个化合物为首次从盾翅藤属中分离得到; 并首次报道了化合物 17 的 ¹³C-NMR 谱数据。其中, 化合物 1~3、10、13 和 14 在不影响细胞活力的情况下, 对 COM 所致 NRK-52E 细胞的损伤具有明显的抑制作用。

关键词: 倒心盾翅藤; 槲皮素; (+)-儿茶素; 异黄酮香豆素; (24*S*)-24-乙基胆甾-3 β ,5 α ,6 β -三醇; (9*S*,10*E*,12*S*,13*S*)-9,12,13-三羟基-10-十八碳烯酸; (9*S*,10*E*,12*S*,13*S*,15*Z*)-三羟基十八烷-10,15-二烯酸; NRK-52E 细胞

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)14-4433-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.14.004

Chemical constituents from vines of *Aspidopterys obcordata*

DANG Zhu-nan¹, HAN Yu¹, ZHANG Ya-qi¹, RUAN Jing-ya², ZHANG Qian-qian¹, WANG Tao^{1,2}, ZHANG Yi^{1,2}

1. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicinal Chemistry and Analytical Chemistry of Tianjin, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the 70% EtOH extract of *Aspidopterys obcordata* vines. **Methods** Silica gel, ODS, and MCI gel CHP 20P column chromatographies, as well as preparative high-performance liquid chromatography were applied for the constituents' isolation from the 70% EtOH extract. Then, $[\alpha]_D$, NMR, MS, CD, and other related spectroscopic analyses were used to identify their structures. Moreover, the protective effects of each purified compound on calcium oxalate monohydrate (COM) induced rat renal tubular epithelial cells (NRK-52E cells) injury were investigated. **Results** A total of 17 compounds, quercetin (1), (+)-catechin (2), isoflavanocoumarin (3), 1-borneol- β -*D*-apiscyl- β -*D*-glucopyranoside (4), lauroside B (5), roseoside II (6), 2,3-*seco*-sonderianol (7), friedelin (8), 2 α ,3 β ,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid (9), (24*S*)-24-ethylcholesta-3 β ,5 α ,6 β -triol (10), suberic acid monomethyl ester (11), 1-azeloyl-*rac*-glycer (12), (9*S*,10*E*,12*S*,13*S*)-9,12,13-trihydroxy-10-octadecenoic acid (13), fulgidic acid (14), 2-[6-*O*-(β -*D*-xylopyranosyl)]- β -*D*-glucopyranosyloxy]propane (15), 3,4-dihydroxybenzamide (16), and 4'-*O*-(β -*D*-glucopyranosyl)-*DL*-pantothenic acid (17) were obtained from the 70% EtOH extract of *A.*

收稿日期: 2023-02-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82074118)

作者简介: 党竹楠 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学。E-mail: dangzhunan998@163.com

*通信作者: 张祎 (1974—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药药效物质基础研究。Tel: (022)59596163 E-mail: zhwxzh@263.net

#共同第一作者: 韩玉 (1997—), 女, 硕士研究生。E-mail: hanyu19971109@163.com

obcordata vines. **Conclusion** Thirteen compounds including 3—5, 7, and 9—17 were isolated firstly from *Aspidopterys* genus. Meanwhile, the ^{13}C -NMR data of compound 17 was reported for the first time. And compounds 1—3, 10, 13, and 14 could significantly improve the survival rate of COM-induced NRK-52E cells injury, suggesting that they had some protective effect against the cells damage.

Key words: *Aspidopterys obcordata* Hemsl.; quercetin; (+)-catechin; isoflavanocoumarin; (24S)-24-ethylcholesta-3 β ,5 α ,6 β -triol; (9S,10E,12S,13S)-9,12,13-trihydroxy-10-octadecenoic acid; fulgidic acid; NRK-52E cells

肾结石是泌尿系统最常见的疾病之一,其全球男性和女性患病率分别约为 10%和 7%,且呈逐年递增的趋势^[1]。肾结石未经治疗可能会导致糖尿病、肾绞痛、泌尿系感染等疾病的发生,进一步会导致肾积水、肾功能损害,最终导致肾衰竭^[2-4]。因此,寻找防治肾结石的有效药物具有重要意义。

作为傣医临床治疗肾结石传统经方——五淋化石胶囊的主要组方药材之一^[5],倒心盾翅藤为金虎尾科(Malpighiaceae)盾翅藤属 *Aspidopterys* A. Juss. 植物倒心盾翅藤 *Aspidopterys obcordata* Hemsl. 的干燥木质藤茎。其性凉,味微苦,具有消炎利尿、清热排石之功效^[6],临床常用其治疗膀胱炎、肾盂炎、急慢性肾炎、尿路感染、泌尿系统结石等疾病,疗效显著^[7-9]。倒心盾翅藤富含糖类、甙体、三萜、酚酸、黄酮、苯丙素、木脂素等多种化学成分。现代药理学研究发现其具有抗结石、抗肿瘤、抗炎等作用^[10]。通过对倒心盾翅藤化学成分及药理作用的归纳总结发现,其化学成分虽种类繁多,但研究缺乏系统性;虽可用于治疗肾结石,但多集中于提取物层面,发挥作用的具体成分尚不明确。

草酸钙结石是最常见的泌尿系统结石类型,占所有肾结石的 80%^[11]。NRK-52E 细胞为小鼠肾小管上皮细胞,其体外培养模型在形态和机能上均可模拟体内环境,广泛应用于肾病治疗药物的活性筛选研究^[12]。在 NRK-52E 细胞培养液中加入一水草酸钙结晶(calcium oxalate monohydrate, COM)后,其可呈簇晶状聚集、黏附于细胞表面。结晶与细胞之间通过微绒毛的运动而产生相互作用,导致 COM 向细胞内运动,从而诱发细胞损伤或者凋亡。因此,COM 诱导的 NRK-52E 细胞损伤常用作抗肾结石活性研究模型^[13]。

本研究采用多种波谱和色谱相结合的技术对倒心盾翅藤藤茎 70%乙醇提取物进行了化学成分研究,从中分离得到 17 个化合物,分别鉴定为槲皮素(quercetin, 1)、(+)-儿茶素 [(+)-catechin, 2]、异黄烷香豆素(isoflavanocoumarin, 3)、龙脑苷(1-borneol- β -D-apiosyl- β -D-glucopyranoside, 4)、大

柱香波龙烷-9-O- β -D-葡萄糖苷(lauroside B, 5)、长春花糖苷II(roseoside II, 6)、2,3-seco-sonderianol(7)、木栓酮(friedelin, 8)、2 α ,3 β ,23-三羟基-12-烯-28-齐墩果酸(2 α ,3 β ,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid, 9)、(24S)-24-乙基胆甾-3 β ,5 α ,6 β -三醇[(24S)-24-ethylcholesta-3 β ,5 α ,6 β -triol, 10]、辛酸单甲酯(suberic acid monomethyl ester, 11)、1-壬二酸甘油酯(1-azeloyl-rac-glycer, 12)、(9S,10E,12S,13S)-9,12,13-三羟基-10-十八碳烯酸[(9S,10E,12S,13S)-9,12,13-trihydroxy-10-octadecenoic acid, 13]、(9S,10E,12S,13S,15Z)-三羟基十八烷-10,15-二烯酸(fulgidic acid, 14)、异丙醇-[6-O-(β -D-木糖基)]- β -D-吡喃葡萄糖苷(2-[6-O-(β -D-xylopyranosyl)]- β -D-glucopyranosyloxy]propane, 15)、3,4-二羟基苯甲酰胺(3,4-dihydroxybenzamide, 16)和 4'-O-(β -D-吡喃葡萄糖基)-维生素 B5 [4'-O-(β -D-glucopyranosyl)-DL-pantothenic acid, 17]。化合物 3~5、7、9~17 共 13 个化合物为首次从盾翅藤属中分离得到;并首次报道了化合物 17 的 ^{13}C -NMR 谱数据。并采用 COM 诱导的 NRK-52E 细胞损伤模型,对分离得到的单体成分进行活性筛选,初步探讨了各单体成分对该模型细胞损伤的抑制作用。

1 仪器与材料

Agilent1260 分析型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); LC-8A 型制备型高效液相色谱仪(日本岛津公司); UHPLC-ESI-Q-Orbitrap MS(UHPLC: Ultimate 3000; MS: Q-Orbitrap, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Bruker 500 MHz/600 MHz 超导核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司); AUTOPOL IV 旋光光谱仪(瑞士鲁道夫公司); J-815 圆二色光谱仪(日本 JASCO 公司); Advantage A10 超纯水机(美国 Millipore 公司); Synergy TM NEO 多功能酶标仪(美国 BioTek 公司); 恒温培养箱 FORMA 311、低温高速离心机 SORVALL ST 16R(美国 Thermo Fisher 科技有限公司); HF Sse 188LL 超净工作台(上海力新仪器有限公司); CKX41 型倒置相差显微镜(日本 OLYMPUS 公司); 正相色谱用硅胶(48~

75 μm , 青岛海洋化工厂); 反相 ODS C_{18} 柱填料 (YMC*Gel ODS-A-HG, S-50 μm , 日本 YMC 株式会社); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板 (10 cm \times 20 cm, 天津思利达科技有限公司); D101 大孔吸附树脂 (净品级, 天津海光化工有限公司); MCI gel CHP 20P (日本三菱化学株式会社); 分析型/制备型 Cosmosil 5C₁₈-MS-II (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm , 250 mm \times 20 mm, 5 μm , 日本 Nacalai Tesque 公司); 分析纯二氯甲烷、无水乙醇、醋酸乙酯、正己烷、甲醇以及色谱纯甲醇、冰醋酸、乙腈 (天津康科德科技有限公司); 氘代甲醇、吡啶、氯仿、二甲基亚砜、重水 (北京崇熙科技孵化器公司); NRK-52E 细胞 (中国科学院细胞库, 目录号: GNR8); COM (上海麦克林公司); 青霉素、链霉素、胰酶 (美国 Gibco 公司); DMEM 高糖培养基、胎牛血清 (以色列 Biological Industries 公司); 分析级二甲基亚砜 (北京 Solarbio 科技有限公司); 细胞级二甲基亚砜、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐 (MTT, 美国 Sigma 公司)。

倒心盾翅藤干燥藤茎采自云南省西双版纳, 由天津中医药大学中药学院马琳教授鉴定为金虎尾科盾翅藤属植物倒心盾翅藤 *A. obcordata* Hemsl. 的干燥藤茎。标本 (6026200101) 保存于天津中医药大学中医药研究院。

2 方法

2.1 提取与分离

倒心盾翅藤干燥藤茎 (15.0 kg) 经 5 倍量 70% 乙醇依次加热回流提取 3、3、2 h, 减压回收溶剂, 得到浸膏 1.3 kg。将上述浸膏 (1 108.5 g) 混悬于水, 用醋酸乙酯-水 (1:1) 萃取 3 次, 得到醋酸乙酯层 (Fr. E)、水层萃取物和乳化层分别为 129.8、855.3、120.8 g。水层萃取物 (769.8 g) 经 D101 大孔吸附树脂柱色谱 (水 \rightarrow 95%乙醇), 分别得到 H₂O 洗脱物 (Fr. HH, 365.9 g) 和 95%乙醇洗脱物 (Fr. HE 253.1 g)。Fr. E (100.0 g) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 100:0 \rightarrow 100:1 \rightarrow 100:2 \rightarrow 100:4 \rightarrow 100:7 \rightarrow 10:1 \rightarrow 8:1 \rightarrow 3:1 \rightarrow 0:100), 得到 Fr. E-1 \sim E-20。Fr. E-2 (2.4 g) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 100:3), 得到化合物 **8** (20.5 mg)。Fr. E-7 (15.0 g) 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水 40:60 \rightarrow 45:55 \rightarrow 50:50 \rightarrow 60:40 \rightarrow 65:35 \rightarrow 70:30 \rightarrow 80:20 \rightarrow 90:10 \rightarrow 95:5 \rightarrow 100:0) 和 pHPLC 分离纯化 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 55:45), 得到化合物 **11** (8.4 mg,

$t_{\text{R}}=20.9$ min)。Fr. E-12 (5.5 g) 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 20:80 \rightarrow 30:70 \rightarrow 40:60 \rightarrow 50:50 \rightarrow 60:40 \rightarrow 70:30 \rightarrow 80:20 \rightarrow 90:10 \rightarrow 100:0)], 得到 Fr. E-12-1 \sim E-12-18。Fr. E-12-1 (246.7 mg) 经 pHPLC 分离制备 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 10:90), 得到化合物 **16** (8.7 mg, $t_{\text{R}}=30.7$ min)。Fr. E-12-6 (766.2 mg) 经 pHPLC 分离制备 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 43:57), 得到化合物 **3** (5.2 mg, $t_{\text{R}}=17.7$ min) 和 **12** (36.4 mg, $t_{\text{R}}=25.3$ min)。Fr. E-12-9 (205.0 mg) 经 pHPLC 分离纯化 (乙腈-1%的冰醋酸水溶液 28:72), 得到化合物 **1** (7.8 mg, $t_{\text{R}}=41.5$ min)。Fr. E-12-10 (334.9 mg) 经 pHPLC 分离制备 (乙腈-1%的冰醋酸水溶液 34:66), 得到化合物 **14** (17.5 mg, $t_{\text{R}}=21.7$ min)。Fr. E-12-11 (429.3 mg) 经 pHPLC 分离制备 (乙腈-1%的冰醋酸水溶液 40:60), 得到化合物 **13** (11.3 mg, $t_{\text{R}}=16.2$ min)。Fr. E-12-12 (298.4 mg) 经 pHPLC 分离制备 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 65:35), 得到化合物 **7** (30.2 mg, $t_{\text{R}}=40.7$ min)。Fr. E-12-13 (283.3 mg) 经 pHPLC 分离制备 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液, 50:50), 得到化合物 **9** (50.2 mg, $t_{\text{R}}=22.1$ min)。Fr. E-12-16 (351.0 mg) 经 pHPLC 分离纯化 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 95:5), 得到化合物 **10** (37.5 mg, $t_{\text{R}}=28.1$ min)。Fr. HH (150.0 g) 经 MCI gel CHP 20P 柱色谱 (甲醇-水 0:100 \rightarrow 10:90 \rightarrow 20:80 \rightarrow 30:70 \rightarrow 40:60 \rightarrow 50:50 \rightarrow 100:0), 得到 Fr. HH-1 \sim HH-16。Fr. HH-8 (1.3 g) 经 pHPLC 分离制备 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 5:95), 得到化合物 **15** (131.1 mg, $t_{\text{R}}=49.4$ min) 和 **17** (18.7 mg, $t_{\text{R}}=53.0$ min)。Fr. HE (180.0 g) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 100:5 \rightarrow 100:7 \rightarrow 10:1 \rightarrow 8:1 \rightarrow 7:1 \rightarrow 5:1 \rightarrow 3:1 \rightarrow 2:1 \rightarrow 0:100), 得到 Fr. HE-1 \sim HE-14。Fr. HE-5 (2.3 g) 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 20:80 \rightarrow 30:70 \rightarrow 40:60 \rightarrow 50:50 \rightarrow 60:40 \rightarrow 100:0) 以及 pHPLC 分离纯化 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 13:87), 得到化合物 **2** (8.8 mg, $t_{\text{R}}=40.7$ min)。Fr. HE-6 (3.8 g) 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 25:75 \rightarrow 35:65 \rightarrow 45:55 \rightarrow 55:45 \rightarrow 65:35 \rightarrow 100:0) 及 pHPLC 分离制备 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 20:80), 得到化合物 **6** (5.0 mg, $t_{\text{R}}=47.7$ min)。Fr. HE-8 (6.5 g) 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 20:80 \rightarrow 30:70 \rightarrow 40:60 \rightarrow 50:50 \rightarrow 60:40 \rightarrow 100:0) 以及 pHPLC 分离制备 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 10:90), 得到 Fr.

HE-8-1-1~HE-8-1-6。Fr. HE-8-2 (786.1 mg) 经 pHPLC 分离纯化 (乙腈-1%的冰醋酸水溶液 9:1), 得到化合物 5 (20.1 mg, $t_R=37.9$ min)。Fr. HE-8-8 (224.6 mg) 经 pHPLC 分离纯化 (甲醇-1%的冰醋酸水溶液 60:40), 得到化合物 4 (7.0 mg, $t_R=20.9$ min)。

2.2 单体成分对 COM 诱导的 NRK-52E 细胞损伤的影响

以 COM 诱导的 NRK-52E 细胞损伤为体外筛选模型, 于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养, 采用 MTT 法对单体成分进行活性筛选, 初步探讨其对 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的抑制作用。

2.2.1 NRK-52E 细胞的培养与处理 将 NRK-52E 细胞于含 10%胎牛血清和 1%双抗的 DMEM 高糖完全培养基的培养皿培养。待细胞融合至 80%~90% 时, 加入 1 mL 0.25%的胰酶, 使其消化成单细胞悬液, 再加入完全培养基终止消化, 转移至 50 mL 离心管低速离心 (800×g、3 min)。弃去上清, 加入完全培养基, 调整细胞浓度, 接种于 96 孔板, 每孔 100 μL, 培养 24 h, 待细胞融合为 80%左右时, 进行相关实验。

2.2.2 单体成分对 NRK-52E 细胞的细胞毒性 取上述 96 孔板, 弃去完全培养基, 空白组和正常组更换为无血清培养基, 各给药组更换为含 50 μmol/L 单体化合物的无血清培养基继续孵育 24 h 后, 弃去培养基, 每孔加入 100 μL 含有 MTT (500 μg/mL) 的培养基, 再次孵育 4 h, 于 490 nm 下检测吸光度 (*A*) 值。

2.2.3 单体成分对 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的减轻作用 取培养 24 h 后细胞融合至约 80%于 96 孔板, 空白组和正常组更换为无血清培养基, 模型组更换为含 3 mmol/L COM 的无血清培养基, 各给药组更换为含 50 μmol/L 单体化合物+3 mmol/L COM 的无血清培养基继续孵育 24 h, 而后弃去培养基, 各组用 100 μL PBS 冲洗。然后, 每孔加入 100 μL 含有 MTT (500 μg/mL) 的培养基, 继续孵育 4 h, 于 490 nm 下检测 *A* 值。

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

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 黄色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 301.033 8 [M-H]⁻ (计算值 C₁₅H₉O₇, 301.034 3), 确定其分子式为 C₁₅H₁₀O₇。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.18 (1H, brs, H-6), 6.41

(1H, brs, H-8), 7.68 (1H, brs, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 7.57 (1H, brd, $J = 9.0$ Hz, H-6'), 11.96 (1H, brs, 5-OH); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 175.9 (C-4), 164.2 (C-7), 160.6 (C-5), 156.0 (C-9), 147.5 (C-4'), 146.5 (C-2), 145.0 (C-3'), 135.7 (C-3), 121.9 (C-1'), 119.8 (C-6'), 115.5 (C-5'), 114.8 (C-2'), 102.8 (C-10), 98.2 (C-6), 93.2 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 鉴定化合物 1 为槲皮素。

化合物 2: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 289.072 5 [M-H]⁻ (计算值 C₁₅H₁₃O₆, 289.070 7), 确定其分子式为 C₁₅H₁₄O₆; CD (*conc.* 0.0006 M, MeOH) mdeg (λ_{nm}): -2.58 (281); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 4.56 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2), 3.97 (1H, ddd, $J = 5.0, 7.5, 8.5$ Hz, H-3), 2.50 (1H, dd, $J = 8.5, 15.5$ Hz, H-4a), 2.84 (1H, dd, $J = 5.0, 15.5$ Hz, H-4b), 5.92 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6), 5.85 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-8), 6.83 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.71 (1H, dd, $J = 1.5, 8.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 157.9 (C-5), 157.6 (C-7), 156.9 (C-9), 146.3 (C-3'), 146.3 (C-4'), 132.3 (C-1'), 120.1 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.3 (C-2'), 100.9 (C-10), 96.3 (C-6), 95.5 (C-8), 82.9 (C-2), 68.9 (C-3), 28.6 (C-4)。其 CD 谱在 281 nm 处显示负的 Cotton 效应, 提示 2 位的绝对构型为 *R*^[15]。H-2 与 H-3 的偶合常数为 7.5 Hz, 提示二者互为 *trans* 构型。因此, 确定其绝对构型为 2*R*,3*S*。以上核磁数据与文献报道基本一致^[16], 鉴定化合物 2 为 (+)-catechin。

化合物 3: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 341.066 9 [M-H]⁻ (计算值 C₁₈H₁₃O₇, 341.065 6), 确定其分子式为 C₁₈H₁₄O₇; ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 5.02 (1H, brs, H-2), 4.27~4.30 (1H, m, H-3), 2.87 (1H, dd, $J = 1.8, 16.8$ Hz, H-4a), 2.96 (1H, dd, $J = 4.2, 16.8$ Hz, H-4b), 6.35 (1H, s, H-6), 6.08 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-12), 8.13 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-13), 7.03 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.80 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.85 (1H, dd, $J = 1.8, 8.4$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 164.4 (C-11), 162.3 (C-5), 156.1 (C-7), 153.5 (C-9), 146.2 (C-3'), 146.1 (C-4'), 141.2 (C-13), 131.4 (C-1'), 119.3 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.2 (C-2'), 109.9 (C-12), 105.5 (C-10), 103.7 (C-8), 95.5 (C-6), 80.8 (C-2), 66.5 (C-3), 29.4 (C-4); H-2 与 H-3 的偶合常数几乎为 0,

提示二者互为顺式构型。同时,其 CD 谱在 230 nm 左右未呈现明显的 Cotton 效应,推测其为 2*R*,3*R* 与 2*S*,3*S* 的混合物^[17],比例约为 1:1。以上核磁数据与文献报道基本一致^[18],鉴定化合物 3 为异黄烷香豆素。

化合物 4: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 447.223 5 $[M-H]^-$ (计算值 $C_{21}H_{35}O_{10}$, 447.222 5), 确定其分子式为 $C_{21}H_{36}O_{10}$; 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 1.05 (3H, s, H₃-1), 1.18~1.21 (1H, m, H-3 α), 2.37~2.40 (1H, m, H-3 β), 1.24~1.27 (1H, m, H-4 β), 1.60~1.63 (1H, m, H-4 α), 1.51~1.54 (1H, m, H-5), 1.57~1.60 (1H, m, H-6 α), 2.48~2.51 (1H, m, H-6 β), 4.20~4.23 (1H, m, H-7), 0.83 (3H, s, H₃-9), 0.77 (3H, s, H₃-10), 4.84 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.05 (1H, dd, $J = 7.8, 9.0$ Hz, H-2'), 4.18 (1H, t-like, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 4.02 (1H, t-like, $J = 9.0$ Hz, H-4'), 4.07 (1H, m, H-5'), 4.20~4.23 (1H, m, H-6'a), 4.70 (1H, dd, $J = 1.2, 11.4$ Hz, H-6'b), 5.83 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-1''), 4.74 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2''), 4.35 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4 β ''), 4.57 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-2-4 α ''), 4.16 (2H, s, H-2-5''); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 111.1 (C-1''), 106.2 (C-1'), 86.2 (C-7), 80.5 (C-3''), 78.6 (C-3'), 77.9 (C-2''), 77.2 (C-5'), 75.4 (C-2'), 75.1 (C-4''), 71.9 (C-4'), 68.8 (C-6'), 65.7 (C-5''), 49.9 (C-2), 47.6 (C-8), 45.4 (C-5), 38.2 (C-6), 28.6 (C-4), 27.1 (C-3), 19.9 (C-10), 18.9 (C-9), 14.2 (C-1)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[19],鉴定化合物 4 为龙脑苷。

化合物 5: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 449.202 6 $[M+COOH]^-$ (计算值 $C_{20}H_{33}O_{11}$, 449.2017), 确定其分子式为 $C_{19}H_{32}O_9$; CD (conc. 0.000 1 M, MeOH) mdeg (λ nm): -0.54 (282); 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.93 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-2 α), 1.84 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-2 β), 2.27 (1H, ddd, $J = 2.5, 5.0, 14.0$ Hz, H-4 α), 2.80 (1H, dd like, $ca. J = 14.0, 14.0$ Hz, H-4 β), 2.17~2.20 (1H, m, H-5), 5.84 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-7), 6.00 (1H, dd, $J = 6.0, 15.5$ Hz, H-8), 4.47 (1H, q-like, $J = 6.0$ Hz, H-9), 1.33 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H₃-10), 0.94 (3H, s, H₃-11), 0.92 (3H, s, H₃-12), 3.58 (1H, dd, $J = 2.5, 11.0$ Hz, H-13 α), 3.78 (1H, dd, $J = 5.0, 11.0$ Hz, H-13 β), 4.37 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.15~3.40 (4H, m, H-2'~5'), 3.66 (1H, dd, $J = 5.5, 12.0$ Hz, H-6 α '), 3.84

(1H, dd, $J = 1.5, 12.0$ Hz, H-6 β '); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 215.0 (C-3), 135.3 (C-8), 133.3 (C-7), 102.9 (C-1'), 78.8 (C-6), 78.1 (C-3'), 78.0 (C-5'), 77.5 (C-9), 75.4 (C-2'), 71.6 (C-4'), 64.5 (C-13), 62.7 (C-6'), 52.5 (C-2), 44.0 (C-1), 43.8 (C-5), 41.3 (C-4), 24.8 (C-11), 24.6 (C-12), 21.5 (C-10)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[20],鉴定化合物 5 为 lauroside B。

化合物 6: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 431.192 1 $[M+COOH]^-$ (计算值 $C_{20}H_{31}O_{10}$, 431.1912), 确定其分子式为 $C_{19}H_{30}O_8$; CD (conc. 0.002 M, MeOH) mdeg (λ nm): +22.08 (242), -1.21 (320); 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.15 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-2 α), 2.51 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-2 β), 5.87 (1H, s, H-4), 5.86 (2H, m, H-7, 8), 4.42 (1H, quin like, $ca. J = 6.0$ Hz, H-9), 1.29 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H₃-10), 1.03 (3H, s, H₃-11), 1.04 (3H, s, H₃-12), 1.92 (3H, s, H₃-13), 4.34 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 3.15~3.37 (4H, m, H-2'~5'), 3.63 (1H, dd, $J = 5.5, 11.5$ Hz, H-6 α '), 3.85 (1H, dd, $J = 1.5, 11.5$ Hz, H-6 β '); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 201.2 (C-3), 167.3 (C-5), 135.3 (C-8), 131.5 (C-7), 127.2 (C-4), 102.7 (C-1'), 80.0 (C-6), 78.1 (C-3'), 78.0 (C-5'), 77.3 (C-9), 75.2 (C-2'), 71.6 (C-4'), 62.8 (C-6'), 50.7 (C-2), 42.4 (C-1), 24.7 (C-12), 23.5 (C-11), 21.2 (C-10), 19.6 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[21],鉴定化合物 6 为 roseoside II。

化合物 7: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 345.170 8 $[M-H]^-$ (计算值 $C_{20}H_{25}O_5$, 345.169 7), 确定其分子式为 $C_{20}H_{26}O_5$; 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 2.37 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-1 α), 2.59 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-1 β), 2.70 (1H, t-like, $J = 5.0$ Hz, H-5), 1.74~1.77 (1H, m, H-6 β), 2.01~2.04 (1H, m, H-6 α), 2.48~2.51 (1H, m, H-7 β), 2.55~2.58 (1H, m, H-7 α), 6.70 (1H, s, H-11), 6.59 (1H, dd, $J = 11.0, 17.5$ Hz, H-15), 5.11 (1H, brd, $J = 18.0$ Hz, H-16 α), 5.50 (1H, brd, $J = 11.0$ Hz, H-16 β), 2.03 (3H, s, H₃-17), 1.13 (3H, s, H₃-18), 0.84 (3H, s, H₃-19), 1.39 (3H, s, H₃-20); ^{13}C -NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 180.7 (C-3), 171.8 (C-2), 153.1 (C-12), 142.3 (C-9), 137.6 (C-14), 135.6 (C-15), 123.9 (C-8), 119.0 (C-16), 118.8 (C-13), 110.1 (C-11), 49.2 (C-1), 44.6 (C-4), 42.8 (C-5), 40.5 (C-10), 27.6 (C-18), 25.7

(C-7), 24.1 (C-20), 22.2 (C-19), 20.6 (C-6), 12.9 (C-17)。以上数据与文献报道基本一致^[22], 鉴定化合物 **7** 为 2,3-seco-sonderianol。

化合物 **8**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 427.393 0 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{30}H_{51}O$, 427.393 4), 确定其分子式为 $C_{30}H_{50}O$; 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.96~1.98 (1H, m, H-1 α), 1.68~1.70 (1H, m, H-1 β), 2.38 (1H, ddd, $J = 2.4, 5.4, 13.2$ Hz, H-2 α), 2.41 (1H, dd, $J = 1.8, 5.4, 13.2$ Hz, H-2 β), 2.25 (1H, q, $J = 6.0$ Hz, H-4), 1.27~1.29 (1H, m, H-6 α), 1.75~1.77 (1H, m, H-6 β), 1.48~1.50 (1H, m, H-7 α), 1.39~1.41 (1H, m, H-7 β), 1.37~1.39 (1H, m, H-8), 1.53~1.55 (1H, m, H-10), 1.27 (1H, m, H-11 α), 1.46 (1H, m, H-11 β), 1.34~1.36 (2H, m, H₂-12), 1.28~1.30 (1H, m, H-15 α), 1.51~1.53 (1H, m, H-15 β), 1.35~1.37 (1H, m, H-16 α), 1.55~1.57 (1H, m, H-16 β), 1.55 (1H, m, overlapped, H-18), 1.20 (1H, dd, $J = 6.0, 13.8$ Hz, H-19 α), 1.36~1.38 (1H, m, H-19 β), 1.48~1.50 (1H, m, H-21 α), 1.25~1.27 (1H, m, H-21 β), 0.93~0.95 (1H, m, H-22 α), 1.50 (1H, m, H-22 β), 0.88 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H₃-23), 0.73 (3H, s, H₃-24), 0.87 (3H, s, H₃-25), 1.00 (3H, s, H₃-26), 1.05 (3H, s, H₃-27), 1.18 (3H, s, H₃-28), 0.95 (3H, s, H₃-29), 1.00 (3H, s, H₃-30); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 213.3 (C-3), 59.5 (C-10), 58.2 (C-4), 53.1 (C-8), 42.8 (C-18), 42.2 (C-5), 41.5 (C-2), 41.3 (C-6), 39.7 (C-13), 39.3 (C-22), 38.3 (C-14), 37.4 (C-9), 36.0 (C-16), 35.6 (C-11), 35.3 (C-19), 35.0 (C-29), 32.8 (C-21), 32.4 (C-15), 32.1 (C-28), 31.8 (C-30), 30.5 (C-12), 30.0 (C-17), 28.2 (C-20), 22.3 (C-1), 20.3 (C-26), 18.7 (C-27), 18.2 (C-7), 18.0 (C-25), 14.7 (C-24), 6.8 (C-23)。以上数据与文献报道基本一致^[23], 鉴定化合物 **8** 为木栓酮。

化合物 **9**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 487.343 0 $[M-H]^-$ (计算值 $C_{30}H_{47}O_5$, 487.341 8), 确定其分子式为 $C_{30}H_{48}O_5$; 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 0.87~0.90 (1H, m, H-1 α), 1.91~1.93 (1H, m, H-1 β), 3.67~3.70 (1H, m, H-2), 3.35 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3), 1.29 (1H, m, H-5), 1.46~1.48 (1H, m, H-6 α), 1.36~1.38 (1H, m, H-6 β), 1.60~1.62 (1H, m, H-7 α), 1.26~1.28 (1H, m, H-7 β), 1.68 (1H, overlapped, H-9), 1.93 (2H, m, H₂-11), 5.25 (1H, t-like, $J = 3.0$ Hz, H-12), 1.76~1.78 (1H, m,

H-15 α), 1.06~1.08 (1H, m, H-15 β), 1.58~1.60 (1H, m, H-16 α), 2.01~2.04 (1H, m, H-16 β), 2.85 (1H, dd, $J = 3.0, 13.2$ Hz, H-18), 1.68~1.70 (1H, m, H-19 α), 1.12~1.14 (1H, m, H-19 β), 1.37~1.39 (1H, m, H-21 α), 1.20~1.22 (1H, m, H-21 β), 1.52~1.54 (1H, m, H-22 α), 1.73~1.75 (1H, m, H-22 β), 3.26 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-23a), 3.50 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-23b), 0.69 (3H, s, H₃-24), 1.03 (3H, s, H₃-25), 0.82 (3H, s, H₃-26), 1.73, 0.91, 0.94 (3H, s, H₃-27), 0.91 (3H, s, H₃-29), 0.94 (3H, s, H₃-30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 233.4 (C-7), 182.1 (C-28), 145.5 (C-13), 123.4 (C-12), 78.2 (C-3), 69.7 (C-2), 66.3 (C-23), 49.0 (C-9), 48.2 (C-5), 47.9 (C-1), 47.7 (C-17), 47.3 (C-19), 44.1 (C-4), 43.0 (C-14), 42.8 (C-18), 40.6 (C-8), 39.1 (C-10), 34.9 (C-21), 33.9 (C-22), 33.6 (C-29), 31.6 (C-20), 28.8 (C-15), 26.5 (C-27), 24.6 (C-11), 24.1 (C-16), 19.1 (C-6), 17.8 (C-26), 17.6 (C-25), 13.9 (C-24), 4.0 (C-30)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[24], 鉴定化合物 **9** 为 2 α ,3 β ,23-trihydroxyolean-12-en-28-oic acid。

化合物 **10**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 493.389 0 $[M+COOH]^-$ (计算值 $C_{30}H_{53}O_5$, 493.389 9), 确定其分子式为 $C_{29}H_{52}O_3$; 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 1.58~1.60 (1H, m, H-1 α), 2.17~2.19 (1H, m, H-1 β), 2.25~2.27 (1H, m, H-2 α), 2.05~2.07 (1H, m, H-2 β), 4.84 (1H, m, H-3), 2.92~2.95 (2H, m, H₂-4), 4.15 (1H, brs, H-6), 1.91~1.93 (1H, m, H-7 α), 2.24~2.26 (1H, m, H-7 β), 2.14 (1H, m, H-8), 1.01 (1H, m, H-9), 1.22 (2H, m, H₂-11), 1.25~1.27 (1H, m, H-12 α), 2.06~2.08 (1H, m, H-12 β), 1.21 (1H, m, H-14), 1.11~1.13 (1H, m, H-15 β), 1.66~1.68 (1H, m, H-15 α), 1.19~1.21 (1H, m, H-16 α), 1.84~1.86 (1H, m, H-16 β), 1.15 (1H, m, H-17), 0.75 (3H, s, H₃-18), 1.64 (3H, s, H₃-19), 1.40 (1H, m, H-20), 1.01 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H₃-21), 1.07 (1H, m, H-22a), 1.40 (1H, m, H-22b), 1.29 (2H, m, H₂-23), 1.95 (1H, m, H-24), 1.68 (1H, m, H-25), 0.87 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H₃-26), 0.88 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H₃-27), 1.50~1.54 (2H, m, H₂-28), 0.89 (3H, t, $J = 6.0$ Hz, H₃-29); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 76.2 (C-6), 75.9 (C-5), 67.4 (C-3), 56.6 (C-14), 56.6 (C-17), 46.1 (C-9), 45.9 (C-24), 43.1 (C-13), 42.8 (C-4), 40.7 (C-12), 39.1 (C-10), 36.5 (C-20), 35.7

(C-7), 34.2 (C-22), 33.3 (C-1), 32.5 (C-2), 31.2 (C-8), 29.5 (C-25), 28.7 (C-16), 26.5 (C-11), 24.6 (C-15), 23.4 (C-23), 21.8 (C-28), 20.0 (C-27), 19.3 (C-26), 19.0 (C-21), 17.2 (C-19), 12.4 (C-18), 12.2 (C-29)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[25], 鉴定化合物 **10** 为 (24*S*)-24-ethylcholesta-3 β ,5 α ,6 β -triol。

化合物 **11**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 187.097 4 [M-H]⁻ (计算值 C₉H₁₅O₄, 187.096 5), 确定其分子式为 C₉H₁₆O₄; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 2.31 (2H, t, J = 7.5 Hz, H₂-2), 1.32~1.35 (4H, m, H₂-4, 5), 1.59~1.63 (4H, m, H₂-3, 6), 2.27 (3H, t, J = 7.5 Hz, H₂-7), 3.65 (3H, s, 1-COOCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 177.8 (C-8), 176.1 (C-1), 52.0 (1-COOCH₃), 35.0 (C-7), 34.8 (C-2), 30.1 (C-5)*, 30.0 (C-4)*, 26.1 (C-6)#, 26.0 (C-3)# (*表示化学位移值可能互换; #表示化学位移值可能互换)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[26], 鉴定化合物 **11** 为辛二酸单甲酯。

化合物 **12**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 261.134 3 [M-H]⁻ (计算值 C₁₂H₂₁O₆, 261.133 3), 确定其分子式为 C₁₂H₂₂O₆; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 2.27 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-2), 1.59 (2H, m, H₂-3), 1.32~1.36 (6H, m, H₂-4~6), 1.57~1.60 (2H, m, H₂-7), 2.35 (2H, t, J = 7.0 Hz, H₂-8), 4.05 (1H, dd, J = 6.0, 11.0 Hz, H-1a'), 4.15 (1H, dd, J = 4.0, 11.0 Hz, H-1b'), 3.80~3.83 (1H, m, H-2'), 3.54 (1H, dd, J = 5.5, 11.0 Hz, H-3a'), 3.55 (1H, dd, J = 5.0, 11.0 Hz, H-3b'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 178.0 (C-1), 175.5 (C-9), 71.2 (C-2'), 66.5 (C-1'), 64.1 (C-3'), 35.1 (C-2), 34.9 (C-8), 30.0 (C-4), 30.0 (C-5), 30.0 (C-6), 26.1 (C-7), 25.9 (C-3)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[27], 鉴定化合物 **12** 为 9-(2',3'-dihydroxypropyloxy)-9-oxononanoic acid。

化合物 **13**: 白色粉末。 $[\alpha]_D^{25}$ -10.1 (c 0.3, MeOH)。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 329.233 3 [M-H]⁻ (计算值 C₁₈H₃₃O₅, 329.232 3), 确定其分子式为 C₁₈H₃₄O₅; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 2.27 (2H, t, J = 7.5 Hz, H₂-2), 1.32~1.60 (18H, m, H₂-3~8, 14~17), 4.05 (1H, q-like, J = 6.0 Hz, H-9), 5.71 (1H, dd, J = 6.0, 15.0 Hz, H-10), 5.66 (1H, dd, J = 6.0, 15.0 Hz, H-11), 3.90 (1H, t-like, J = 6.0 Hz, H-12), 3.40~3.43 (1H, m, H-13), 0.91 (3H, t, J = 7.0

Hz, H₃-18); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 177.9 (C-1), 136.6 (C-10), 131.1 (C-11), 76.6 (C-12), 75.8 (C-13), 73.1 (C-9), 38.4 (C-8), 35.1 (C-2), 33.6 (C-14), 33.2 (C-16), 30.6 (C-6), 30.4 (C-5), 30.2 (C-4), 26.6 (C-15), 26.5 (C-7), 26.2 (C-3), 23.7 (C-17), 14.5 (C-18)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[28], 鉴定化合物 **13** 为 (9*S*,10*E*,12*S*,13*S*)-9,12,13-trihydroxy-10-octadecenoic acid。

化合物 **14**: 白色粉末。 $[\alpha]_D^{25}$ -11.6 (c 0.2, MeOH)。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 327.217 7 [M-H]⁻ (计算值 C₁₈H₃₁O₅, 327.216 6), 确定其分子式为 C₁₈H₃₂O₅; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 2.26 (2H, t, J = 7.5 Hz, H₂-2), 1.27~1.60 (8H, m, H₂-3~8), 4.05 (1H, q-like, J = 6.0 Hz, H-9), 5.69 (1H, dd, J = 5.0, 15.0 Hz, H-10), 5.71 (1H, dd, J = 6.0, 15.0 Hz, H-11), 3.95 (1H, t-like, J = 5.0 Hz, H-12), 3.44~3.47 (1H, m, H-13), 2.11 (1H, ddd, J = 6.0, 8.0, 14.0 Hz, H-14a), 2.34 (1H, ddd, J = 4.0, 7.5, 14.0 Hz, H-14b), 5.42~5.45 (1H, m, H-15), 5.45~5.48 (1H, m, H-16), 2.04~2.07 (2H, m, H₂-17), 0.96 (3H, t, J = 7.5 Hz, H₃-18); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 178.2 (C-1), 136.6 (C-10), 134.4 (C-16), 131.1 (C-11), 126.4 (C-15), 75.9 (C-13), 75.8 (C-12), 73.1 (C-9), 38.4 (C-8), 35.3 (C-2), 31.6 (C-14), 30.6 (C-6), 30.4 (C-5), 30.3 (C-4), 26.5 (C-7), 26.2 (C-3), 21.7 (C-17), 14.6 (C-18)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[29], 鉴定化合物 **14** 为 (9*S*,10*E*,12*S*,13*S*,15*Z*)-三羟基十八烷-10,15-二烯酸。

化合物 **15**: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 353.145 7 [M-H]⁻ (计算值 C₁₄H₂₅O₁₀, 353.144 2), 确定其分子式为 C₁₄H₂₆O₁₀; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 1.19 (3H, d, J = 6.0 Hz, H₃-1), 4.02~4.05 (1H, m, H-2), 1.23 (3H, d, J = 6.0 Hz, H₃-3), 4.33 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1'), 3.10~3.90 (9H, m, H-2'~5', 2''~4'', 5a'', 5b''), 3.74 (1H, dd, J = 5.5, 11.5 Hz, H-6a'), 4.07 (1H, dd, J = 2.0, 11.5 Hz, H-6b'), 4.33 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 105.4 (C-1''), 102.6 (C-1'), 77.9 (C-3'), 77.7 (C-3''), 76.9 (C-5'), 75.0 (C-2'), 74.8 (C-2''), 72.8 (C-2), 71.4 (C-4'), 71.2 (C-4''), 69.7 (C-6'), 66.9 (C-5''), 23.9 (C-3), 22.2 (C-1)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[30], 鉴定化合物 **15** 为 2-[6-*O*-(β -*D*-xylopyranosyl)- β -*D*-

glucopyranosyloxy] propane。

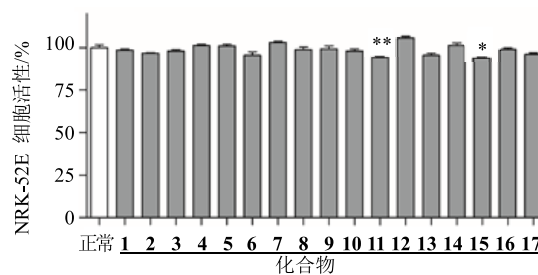
化合物 16: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 152.034 4 $[M-H]^-$ (计算值 $C_7H_6O_3N$, 152.034 2), 确定其分子式为 $C_7H_6O_3N$; ^1H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.32 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.26 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6); $^{13}C-NMR$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 172.6 (C-7), 150.5 (C-4), 146.3 (C-3), 126.2 (C-1), 121.2 (C-6), 116.1 (C-2), 115.8 (C-5)。其 ^1H-NMR 谱数据与文献报道基本一致^[31], 鉴定化合物 16 为 3,4-dihydroxybenzamide。

化合物 17: 白色粉末。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 m/z 380.157 1 $[M-H]^-$ (计算值 $C_{15}H_{26}O_{10}N$, 380.155 1), 确定其分子式为 $C_{15}H_{27}O_{10}N$; ^1H-NMR (500 MHz, D_2O) δ : 2.57 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H₂-2), 3.45~3.48 (2H, m, H₂-3), 4.05 (1H, s, H-2'), 3.49 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-4a'), 3.69 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-4b'), 0.88 (3H, s, H₃-5'), 0.95 (3H, s, H₃-6'), 4.37 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 3.20~3.50 (4H, m, H-2''~H-5''), 3.68 (1H, dd, $J = 6.0, 12.0$ Hz, H-6a''), 3.88 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-6b''); $^{13}C-NMR$ (125 MHz, D_2O) δ : 175.6 (C-1), 175.6 (C-1'), 103.7 (C-1''), 77.0 (C-4), 76.5 (C-5''), 76.2 (C-3''), 75.6 (C-2'), 73.8 (C-2''), 70.4 (C-4''), 61.4 (C-6''), 38.9 (C-3'), 35.6 (C-3), 34.7 (C-2), 21.7 (C-6'), 19.9 (C-5')。其 ^1H-NMR 谱数据与文献报道基本一致^[32], 鉴定化合物 17 为 4'-*O*-(β -*D*-glucopyranosyl)-*DL*-pantothenic acid。

3.2 活性评价

3.2.1 倒心盾翅藤藤茎单体成分对 NRK-52E 细胞活力的影响 为了在安全浓度下测定化合物对 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的保护作用, 首先研究了其对该细胞的细胞毒性。结果表明, 在 50 μ mol/L 浓度下, 除 11 和 15 外, 其他化合物对 NRK-52E 细胞的生长未表现出明显的抑制作用 (图 1), 提示 50 μ mol/L 可以作为进一步活性测定用浓度。

3.2.2 倒心盾翅藤藤茎单体成分对 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的保护作用研究 以 3 mmol/L COM 诱导 24 h 的 NRK-52E 细胞损伤作为模型组。如表 1 所示, 与正常组对比, 模型组细胞活力明显下降, 提示造模成功。在此基础上, 评价无细胞毒性化合物 1~10、12~14、16 和 17 在 50 μ mol/L 下对 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的抑制作用。与模型组相比, 化合物 1~3、10、13 以及 14 可显著干预



与正常组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs normal group

图 1 化合物 1~17 对 NRK-52E 细胞的 MTT 实验 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 MTT assay of compounds 1—17 on NRK-52E cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 1 化合物对 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Protective effect of compounds on injury of NRK-52E cells induced by COM ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	细胞存活率/%	组别	细胞存活率/%
正常	100.0 ± 0.3	8	82.8 ± 1.0
模型	78.6 ± 1.1 ^{###}	9	82.3 ± 1.3
1	85.1 ± 1.3 ^{**}	10	91.5 ± 1.4 ^{***}
2	86.9 ± 1.3 ^{***}	12	80.4 ± 0.8
3	84.7 ± 1.7 ^{**}	13	88.5 ± 1.3 ^{***}
4	77.5 ± 1.3	14	84.2 ± 1.1 ^{**}
5	77.9 ± 1.6	16	78.2 ± 0.9
6	77.2 ± 1.5	17	76.1 ± 1.4
7	82.2 ± 0.8		

与正常组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$
^{###} $P < 0.001$ vs normal group; ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

由 COM 所致 NRK-52E 细胞活力的下降, 提示这些化合物对 NRK-52E 细胞损伤具有明显的保护作用。

4 讨论

本研究采用多种色谱和波谱相结合的技术, 从傣药倒心盾翅藤藤茎中分离鉴定了 17 个化合物, 包括 3 个黄酮类成分、6 个萜类成分、4 个脂肪酸类成分以及 4 个其他类成分。其中, 化合物 3~5、7、9~17 为首次从盾翅藤属中分离得到的化合物; 并首次报道了化合物 17 的 $^{13}C-NMR$ 谱数据。同时, 发现化合物 1~3、10、13 和 14 在不影响细胞活力的情况下, 对 COM 所致 NRK-52E 细胞的损伤具有明显的抑制作用, 推测其具有潜在的抗肾结石的活性。

作为傣医临床用量较大的天然药物之一, 倒心

盾翅藤常用于治疗膀胱炎、肾盂炎、急慢性肾炎、尿路感染、泌尿系统结石等。本研究通过对其化学成分的研究,进一步加深了人们对倒心盾翅藤物质基础的认识;通过对各单体成分抑制 COM 致 NRK-52E 细胞损伤的活性测定,发现了潜在的抗肾结石的单体成分,为其应用于临床治疗肾损伤相关疾病提供了依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sorokin I, Mamoulakis C, Miyazawa K, et al. Epidemiology of stone disease across the world [J]. *World J Urol*, 2017, 35(9): 1301-1320.
- [2] Daudon M, Jungers P. Diabetes and nephrolithiasis [J]. *Curr Diab Rep*, 2007, 7(6): 443-448.
- [3] Leveridge M, D'Arcy F T, O'Kane D, et al. Renal colic: Current protocols for emergency presentations [J]. *Eur J Emerg Med*, 2016, 23(1): 2-7.
- [4] 权良明, 黄群联. 泌尿系感染与肾结石诊疗关系的研究现状 [J]. 沈阳医学院学报, 2017, 19(2): 163-166.
- [5] 王乾礼, 宋雪兰, 赵应红. 傣药雅拢牛哈占波的临床疗效评价 [J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(11): 58-61.
- [6] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 (第八卷-种子植物) [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 387.
- [7] 玉腊对, 胡建波. 傣药盾翅藤与五淋化石胶囊结合治疗肾结石 [J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(10): 25.
- [8] 杨鸿, 林艳芳, 赵应红. 傣药五淋化石胶囊治疗泌尿系结石 41 例临床疗效观察 [J]. 中国民族医药杂志, 2012, 18(6): 13-14.
- [9] 玉腊波, 谭志刚, 黄勇. 傣中药结合治疗泌尿系结石 38 例临床观察 [J]. 中国民族医药杂志, 2009, 15(2): 17-18.
- [10] 韩玉, 郝谜谜, 阮静雅, 等. 傣药倒心盾翅藤的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(20): 64-68.
- [11] 高新梅, 戚微岩, 徐寒梅. 肾结石形成机制及治疗方法研究进展 [J]. 药物生物技术, 2019, 26(6): 558-561.
- [12] 谈金, 杨如娥, 邓穗平, 等. 肾小管上皮细胞损伤及其诱导草酸钙晶体成核 [J]. 中国科学: 化学, 2010, 40(8): 1186-1192.
- [13] 蔡华芳. 草酸钙肾结石模型及其应用 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2010, 11(8): 750-752.
- [14] 张玮, 何枢衡, 葛丹丹, 等. 半枝莲化学成分的分离与鉴定 (II) [J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(6): 425-428.
- [15] 魏书香, 王桐, 丁丽琴, 等. 浙江七叶树种子的化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(15): 3026-3031.
- [16] Choi J, Cho J Y, Kim Y D, et al. Phenolic compounds and triterpenes from the barks of *Diospyros burmanica* [J]. *Nat Prod Sci*, 2015, 21(2): 76-81.
- [17] 谢石安, 李国玉, 张珂, 等. 锁阳化学成分分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(7): 525-528.
- [18] 陈程, 付琛, 叶文才, 等. 阳春砂仁的酚性成分研究 [J]. 中药材, 2012, 35(4): 571-573.
- [19] 朱永新, 刘林喆, 凌大奎, 等. 麦冬的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1989, 14(6): 39-40.
- [20] De Marino S, Borbone N, Zollo F, et al. Megastigmane and phenolic components from *Laurus nobilis* L. leaves and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(25): 7525-7531.
- [21] Otsuka H, Yao M, Kamada K, et al. Alangionosides G-M: Glycosides of megastigmane derivatives from the leaves of *Alangium premnifolium* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(5): 754-759.
- [22] Pattamadilok D, Suttisri R. Seco-terpenoids and other constituents from *Elateriospermum tapos* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(2): 292-294.
- [23] 伍睿, 叶其, 陈能煜, 等. 倒心盾翅藤的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2001(1): 14-16.
- [24] 陈怀远, 涂林锋, 肖春荣, 等. 单叶蔓荆子的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(18): 3694-3700.
- [25] 席鹏洲, 秦亚丽, 王跃虎, 等. 马莲鞍化学成分研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2011, 39(8): 185-189.
- [26] Freitas J, Abrantes L, Darbre T. Synthesis of long-chain 3-alkylpyrroles bearing terminal carboxy or amino groups [J]. *Helvetica Chim Acta*, 2005, 88(9): 2470-2478.
- [27] Lainer J, Dawid C, Dunkel A, et al. Characterization of bitter-tasting oxylipins in poppy seeds (*Papaver somniferum* L.) [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(38): 10361-10373.
- [28] Miura A, Kuwahara S. A concise synthesis of pinellin acid using a cross-metathesis approach [J]. *Tetrahedron*, 2009, 65(17): 3364-3368.
- [29] Shin J S, Hong Y J, Lee H H, et al. Fulgidic acid isolated from the rhizomes of *Cyperus rotundus* suppresses LPS-induced iNOS, COX-2, TNF- α , and IL-6 expression by AP-1 inactivation in RAW264.7 macrophages [J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(7): 1081-1086.
- [30] Jaroszewski J W, Rasmussen A B, Rasmussen H B, et al. Biosynthesis of cyanohydrin glucosides from unnatural nitriles in intact tissue of *Passiflora morifolia* and *Turnera angustifolia* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(3): 649-654.
- [31] Saito S, Kawabata J. Effects of electron-withdrawing substituents on DPPH radical scavenging reactions of protocatechuic acid and its analogues in alcoholic solvents [J]. *Tetrahedron*, 2005, 61(34): 8101-8108.
- [32] Teruo A, Imamoto S, Yoshizumi H. A growth factor for malo-lactic fermentation bacteria [J]. *Agr Biol Chem*, 1971, 35(8): 1222-1230.

[责任编辑 王文倩]