

扁刺峨眉蔷薇化学成分及其酪氨酸酶抑制活性研究

付 茂^{1,2,3}, 杜彩霞^{1,2}, 陈俊磊^{1,2}, 倪 铭^{1,2}, 李欢阳^{1,2}, 苑春茂^{1,2}, 杨 珏^{1,2}, 黄烈军^{1,2}, 顾 玮^{1,2*}

1. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014

2. 贵州省天然产物研究中心, 贵州 贵阳 550014

3. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 550025

摘 要: **目的** 对扁刺峨眉蔷薇 *Rosa omeiensis* f. *pteracantha* 全株的化学成分和酪氨酸酶抑制活性进行研究。**方法** 将扁刺峨眉蔷薇样品进行干燥、粉碎, 采用溶剂提取法、MCI HP20 柱色谱、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、半制备 RP-HPLC 等方法进行分离纯化, 利用 1D-NMR、MS 等多种现代波谱技术对化合物进行结构鉴定。并采用 B16F10 细胞建立酪氨酸酶抑制活性评价模型, 利用多巴氧化法评价化合物对 B16F10 细胞中的酪氨酸酶抑制活性。**结果** 从扁刺峨眉蔷薇 75% 甲醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中共分离得到 21 个化合物, 分别鉴定为野鸦椿酸 (1)、negundonorin A (2)、覆盆子酸 (3)、刺梨苷 (4)、野蔷薇苷 (5)、2 α ,3 α -dihydroxy-19-oxo-18,19-seco-urs-11,13(18)-dien-28-oic acid (6)、胡萝卜苷 (7)、小麦黄素 (8)、8-甲氧羰基儿茶素 (9)、柚皮素 (10)、槲皮素 (11)、3,3'-O-二甲基鞣花酸 (12)、1-hydroxy-2,6-bis-*epi*-pinoresinol (13)、东莨菪素 (14)、3-吡啶甲醛 (15)、短叶苏木酚酸甲酯 (16)、3,4,5-trimethoxyphenyl-(6'-*O*-galloyl)-*O*- β -D-glucopyranoside (17)、没食子酸甲酯 (18)、原儿茶酸 (19)、 β -羟基-3-甲氧基-4-羟基苯乙酮 (20)、异香草酸 (21)。酪氨酸酶抑制活性筛选结果表明, 在浓度 40 μ mol/L 时, 化合物 1~3、5、13、14、16、21 有显著酪氨酸酶抑制活性 ($P < 0.05$ 、0.01), 且抑制作用高于阳性药曲酸。在浓度 20 μ mol/L 时, 化合物 1、3、5、14、21 具有显著的酪氨酸酶抑制活性 ($P < 0.05$ 、0.001)。**结论** 21 个化合物均为首次从扁刺峨眉蔷薇中分离得到, 其中化合物 2、6、12、15、17、20 为首次从蔷薇属中分离得到; 多数化合物都具有显著的酪氨酸酶抑制活性, 且活性高于阳性药曲酸。扁刺峨眉蔷薇资源在用于美白功效日用品的开发方面具有较高的潜力。

关键词: 蔷薇属; 扁刺峨眉蔷薇; 酪氨酸酶抑制活性; 三萜类; 酚酸类; 野鸦椿酸; 覆盆子酸; 野蔷薇苷

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253 - 2670(2024)03 - 0720 - 10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.03.004

Chemical constituents from *Rosa omeiensis* f. *pteracantha* as well as their inhibitory activities against tyrosinase

FU Mao^{1,2,3}, DU Caixia^{1,2}, CHEN Junlei^{1,2}, NI Ming^{1,2}, LI Huanyang^{1,2}, YUAN Chunmao^{1,2}, YANG Jue^{1,2}, HUANG Liejun^{1,2}, GU Wei^{1,2}

1. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China

2. Natural Products Research Center of Guizhou Province, Guiyang 550014, China

3. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents and their inhibitory activities against tyrosinase from the whole plants of *Rosa omeiensis* f. *pteracantha*. **Methods** The samples from *R. omeiensis* f. *pteracantha* were dried and crushed, and were isolated and purified by solvent extraction, MCI HP20, silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography, semi-preparative RP-HPLC and other methods. The structures of compounds were elucidated by 1D-NMR, MS and other modern spectral techniques. The tyrosinase inhibitory activity evaluation model was established in B16F10 cells, and the inhibitory activity of the compound was evaluated by dopa oxidation method. **Results** A total of 21 compounds were isolated from the ethyl acetate extract of 75% methanol extract of *R.*

收稿日期: 2023-10-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32060081); 国家自然科学基金资助项目 (U1812403); 贵州医科大学学术新苗项目 (19NSP004); 贵州省科技计划项目 (黔科中引地 [2022] 4015)

作者简介: 付 茂, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。Tel: 15348696575 E-mail: 1324108002@qq.com

*通信作者: 顾 玮。Tel: (0851)83804492 E-mail: guwei2009@126.com

omeiensis f. *pteracantha* and identified as euscaphic (1), negundonorin A (2), raspberry acid (3), kajiichigoside F₁ (4), rosamultin (5), 2 α ,3 α -dihydroxy-19-oxo-18,19-*seco*-urs-11,13(18)-dien-28-oic acid (6), β -sitosterol- β -D-glucopyranoside (7), tricin (8), 8-methoxycarbonylcatechin (9), naringenin (10), quercetin (11), 3,3'-di-O-methylellagic acid (12), 1-hydroxy-2,6-bis-*epi*-pinoresinol (13), scopoletin (14), indole-3-carboxaldehyde (15), methyl brevifolin-carboxylate (16), 3,4,5-trimethoxyphenyl-(6'-O-galloyl)-O- β -D-glucopyranoside (17), methyl gallate (18), protocatechuic acid (19), β -hydroxypropiovanillone (20), isovanillic acid (21). The results of tyrosinase inhibitory activities screening showed that compounds 1—3, 5, 13, 14, 16 and 21 exhibited significant tyrosinase inhibitory activities at 40 μ mol/L ($P < 0.05$, 0.01), and the their activities were higher than that of positive drug kojic acid. At 20 μ mol/L, compounds 1, 3, 5, 14 and 21 still showed significant tyrosinase inhibitory activities ($P < 0.05$, 0.01). **Conclusion** All the compounds were isolated from *R. omeiensis* f. *pteracantha* for the first time, six compounds including 2, 6, 12, 15, 17, 20 were isolated firstly from *Rosa* genus. Most compounds exhibited significant tyrosinase inhibitory activities, and their activities were higher than that of positive drug. Therefore, it can be inferred that the resource of the *R. omeiensis* f. *pteracantha* has high potential in the development of whitening daily necessities.

Key words: *Rosa* L.; *Rosa omeiensis* f. *pteracantha* Rehd. et Wils.; tyrosinase inhibitory activity; triterpene; phenolic acid; euscaphic; raspberry acid; rosamultin

黑色素是动植物中均含有的一种生物色素，由黑色素细胞生成并储存，黑色素的含量及分布影响了皮肤颜色，当皮肤受到紫外线强烈照射时，紫外线诱导可产生氧自由基，促进酪氨酸酶表达，刺激局部皮肤生成黑色素，从而导致皮肤色素沉着。酪氨酸酶是一种含铜的氧化还原酶，酪氨酸经其催化形成多巴醌，经 DHI 氧化酶和 DHICA 氧化酶的作用形成黑色素，是黑色素合成过程的主要限速酶^[1-2]。研究表明^[3]，抑制酪氨酸酶活性可以减少皮肤黑色素的生成，具有良好的美白功效。

蔷薇属植物在贵州分布广泛，目前中国已经发现并记录的蔷薇属植物有 96 种，其中贵州省内已经发现并记录的蔷薇属植物资源有 42 种，占中国蔷薇植物资源的 43.8%^[4]。蔷薇属植物作为贵州的优势资源，除了在药用、食品工艺、城市景观等方面发挥着重要作用，以期发现其更多的利用价值。已有研究表明^[5]，蔷薇属植物中含有大量酚酸类、黄酮类、三萜类等化合物，其中，有研究发现刺梨多糖、刺梨黄酮和刺梨多酚三种提取物均有显著的抑制酪氨酸酶活性^[6]。基于蔷薇属很多植物同时具有药食两用的价值，安全性较高，因此，推测蔷薇属植物在作为美白化妆品原料方面具有较高的开发潜力。

扁刺峨眉蔷薇 *Rosa omeiensis* f. *pteracantha* Rehd. et Wils. 是蔷薇科 (Rosaceae) 蔷薇属 *Rosa* L. 直立灌木，别名扁刺、翅刺峨眉蔷薇、红果螳螂果，是峨眉蔷薇 *R. omeiensis* Rolfe 的变型，区别是其新枝直立细弱，密被针刺及宽扁大形皮刺，常近于相连而呈翅状，幼时深红，半透明^[7]。据本课题组前期

实地调研得知，该植物果实可以食用，在当地俗称“沙糖果”，且根茎叶和果实均可入药，在贵州民间主要用于治疗肠胃炎、痢疾、支气管炎等。其果实味甜可以食用，晒干磨粉掺入面粉可作食品，又可入药，有止血、止痢、涩精之效，和《高黎贡山药用植物名录》中所记载的刺石榴果（峨眉蔷薇果实）药用功效一致^[8]。目前尚未有其化学成分及药理活性的相关报道。本研究为首次研究扁刺峨眉蔷薇的化学成分，并期望通过 B16F10 细胞模型，评价扁刺峨眉蔷薇中化学成分对酪氨酸酶活性的影响，以阐明扁刺峨眉蔷薇在美白功效方面的利用价值。

本实验从扁刺峨眉蔷薇 75% 甲醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中共分离得到 21 个化合物，分别鉴定为野鸦椿酸 (euscaphic, 1)、negundonorin A (2)、覆盆子酸 (raspberry acid, 3)、刺梨苷 (kajiichigoside F₁, 4)、野蔷薇苷 (rosamultin, 5)、2 α ,3 α -dihydroxy-19-oxo-18,19-*seco*-urs-11,13(18)-dien-28-oic acid (6)、胡萝卜苷 (β -sitosterol- β -D-glucopyranoside, 7)、小麦黄素 (tricin, 8)、8-甲氧羰基儿茶素 (8-methoxycarbonylcatechin, 9)、柚皮素 (naringenin, 10)、槲皮素 (quercetin, 11)、3,3'-O-二甲基鞣花酸 (3,3'-di-O-methylellagic acid, 12)、1-hydroxy-2,6-bis-*epi*-pinoresinol (13)、东莨菪素 (scopoletin, 14)、3-吡啶甲醛 (indole-3-carboxaldehyde, 15)、短叶苏木酚酸甲酯 (methyl brevifolin-carboxylate, 16)、3,4,5-trimethoxyphenyl-(6'-O-galloyl)-O- β -D-glucopyranoside (17)、没食子酸甲酯 (methyl gallate, 18)、原儿茶酸 (protocatechuic acid, 19)、 β -羟基-3-甲氧基-4-

羟基苯乙酮 (β -hydroxypropiovanillone, **20**)、异香草酸 (isovanillic acid, **21**)。21 个化合物均为首次从扁刺峨眉蔷薇中分离得到。对部分化合物进行酪氨酸酶活性评价, 结果表明, 在 B16F10 细胞模型中, 多数化合物表现出显著的酪氨酸酶抑制活性 ($P < 0.05$), 且活性高于阳性药曲酸。

1 材料与仪器

柱色谱硅胶 (40~80、200~300、300~400 目) 和薄层柱色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 凝胶 (Pharmacia 公司, 美国); HITACHI 高效液相色谱仪 (Primade, 日立高新技术集团, 日本); 反相填充材料 RP-18 (Merck 公司, 德国); HPLC 色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ (半制备柱, 250 mm×9.4 mm, 5 μ m, 安捷伦公司, 美国); INOVA-600 MHz 核磁共振波谱仪 (Bruker 公司, 德国); HP 1100 型液相色谱质谱联用仪 (惠普公司, 美国); API Qstar Pulsar 质谱仪; BioTek Epoch 全波长酶标仪 (BioTek 公司, 美国)。本实验所用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、丙酮、甲醇等有机溶剂均为工业级, 重蒸后使用; 色谱级的甲醇 (云南新蓝景化学工业有限公司)。小鼠黑色素瘤细胞 B16F10 来源于 ATCC; DMEM 培养基 (Solarbio 公司, 中国); 胎牛血清 (Gemini 公司, 美国); 胰酶 (Solarbio 公司, 中国); 四甲基偶氮噻唑蓝 (麦克林生化科技, 中国); 曲酸 (麦克林生化科技, 批号 C12718847)。

扁刺峨眉蔷薇全株于 2021 年 7 月采自贵州省毕节市大方县, 经贵州省天然产物研究中心顾玮副研究员鉴定为扁刺峨眉蔷薇 *R. omeiensis* f. *pteracantha* Rehd. et Wils, 凭证标本 (GZCNG-2021-0235) 保存于贵州省天然产物研究中心。

2 方法

2.1 提取与分离

取扁刺峨眉蔷薇干燥植株 54.0 kg 进行粉碎, 用 75% 甲醇-水溶液 75 $^{\circ}$ C 提取 5 次 (每次 4 h), 滤过, 合并提取液, 减压浓缩得到提取物浸膏, 共 6.0 kg, 加水将其溶解成混悬液, 将醇提取物依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取溶液至无色, 减压浓缩各部分萃取液得到石油醚部分、醋酸乙酯部分和正丁醇部分。将醋酸乙酯部位 (1.2 kg) 用硅胶柱色谱 (40~80 目) 进行分离, 洗脱溶剂为三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇 (30:1、20:1、15:1、10:1、5:1、2:1、1:1)、甲醇, 结合 TLC 检测, 将醋酸乙酯

部分分为 6 个组分 (Fr. A~F)。

Fr. B (96.0 g) 通过 RP-18 柱色谱, 用甲醇-水 (10:90~100:0) 洗脱得到 9 个组分。Fr. B.1 (8.8 g) 用硅胶柱色谱 (100~200 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (50:1~1:1) 梯度洗脱得到 Fr. B.1.1~B.1.9, Fr. B.1.3 (151.0 mg) 用硅胶柱色谱 (300~400 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (80:1~1:1) 梯度洗脱得到化合物 **15** (2.5 mg)、**14** (4 mg), Fr. B.1.6 (2.34 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (50:1~1:1) 梯度洗脱得到 Fr. B.1.6.1~B.1.6.8, Fr. B.1.6.2 (253 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到化合物 **21** (30 mg)。Fr. B.1.6.7 (253 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到化合物 **9** (5 mg)。Fr. B.1.6.4 (1.06 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到 Fr. B.1.6.4.1~B.1.6.4.10, Fr. B.1.6.4.10 (153 mg) 用硅胶柱色谱 (300~400 目) 进行分离, 三氯甲烷-丙酮 (50:1~1:1) 梯度洗脱得到化合物 **20** (35 mg)。Fr. B.1.6.4.8 (200 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到 4 个组分, Fr. B.1.6.4.8.4 (90 mg) 用硅胶柱色谱 (300~400 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (100:1~1:1) 梯度洗脱得到化合物 **3** (15 mg)、**2** (13 mg)。Fr. B.3 中析出白色粉末, 滤出得到化合物 **12** (9.3 mg), Fr. B.3 (14 g) 用硅胶柱色谱 (100~200 目) 进行分离, 三氯甲烷-丙酮 (50:1~1:1) 梯度洗脱得到 Fr. B.3.1~B.3.11, Fr. B.3.1.7 中重结晶得到化合物 **8** (11.2 mg), Fr. B.3.4 (3.36 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到 8 个组分, Fr. B.3.4.4 (1.78 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-丙酮 (50:1~1:1) 梯度洗脱得到化合物 **1** (300 mg), Fr. B.4 中析出无色结晶, 得到化合物 **6** (28.2 mg), Fr. B.1.7 (4.5 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到化合物 **11** (8 mg), Fr. B.1.7.9 (1.34 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 石油醚-醋酸乙酯 (30:1~1:1) 梯度洗脱得到 Fr. B.1.7.9.1~B.1.7.9.8, Fr. B.1.7.9.6 (1.1 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 石油醚-醋酸乙酯 (20:1~1:1) 梯度洗脱得到化合物 **13** (200 mg), Fr. B.2 (1.03 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-丙酮 (50:1~1:1) 梯度洗脱得到 Fr. B.2.1~B.2.8, Fr. B.2.6 (207 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到化合物 **10** (43 mg), Fr. B.2.4 (300 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到 5 个组分, Fr. B

2.4.3 (150 mg) 经半制备 RP-HPLC (甲醇-水 54 : 46, 2.0 mL/min) 得到化合物 **18** ($t_R=32.1$ min)、**19** ($t_R=41.0$ min)。

Fr. D (335 g) 用 RP-18 柱色谱, 甲醇-水 (10 : 90~100 : 0) 洗脱得到 26 个组分。Fr. D.4 (20 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (50 : 1~1 : 1) 梯度洗脱得到化合物 **16** (110 mg)。Fr. D 4.4 (3.3 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到 7 个组分, Fr. D 4.4.3 (832 mg) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (80 : 1~1 : 1) 梯度洗脱得到 Fr. D 4.4.3.1~D 4.4.3.9, Fr. D 4.4.3.6 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到化合物 **17** (30 mg)。Fr. D.12 (2 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱得到 3 个组分, Fr. D 12.3 (500 mg) 经半制备 RP-HPLC (甲醇-水 63 : 37, 2.0 mL/min) 得到化合物 **5** (100 mg, $t_R=15.1$ min)、**4** (9 mg, $t_R=12.0$ min)。Fr. D.25 (1.1 g) 用硅胶柱色谱 (200~300 目) 进行分离, 三氯甲烷-甲醇 (20 : 1~1 : 1) 梯度洗脱得到化合物 **7** (200 mg)。

2.2 扁刺峨眉蔷薇化合物对 B16F10 细胞酪氨酸酶活性的影响

2.2.1 实验分组 将 B16F10 细胞接种于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度环境下培养, 待细胞生长至融合状态, 以胰酶消化传代, 每 2 天传代 1 次。收集对数生长期细胞, 调整细胞密度至 5×10^4 个/mL, 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 细胞浓度为 5×10^3 个/孔, 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度环境下培养 24 h 后, 将细胞分为空白组、正常组、实验组、阳性对照组 (曲酸), 实验组加入含有不同浓度化合物的培养基 100 μ L, 正常组细胞中加入 100 μ L 不含药物的培养基, 空白组不接种细胞, 代之等量培养基, 其余各组分别加入 100 μ L 含有相应剂量药物培养基。每组设置 3 个重复, 于 37 °C、5% CO₂ 孵育 48 h。

2.2.2 MTT 比色法测定化合物对 B16F10 细胞的毒性 参考已报道实验方法^[9]并稍作修改, 按“2.2.1”项下方法处理细胞 48 h 后, 每孔加入 10 μ L 的 MTT 溶液, 放培养箱 4 h 后, 弃去上清液, 每孔加入 100 μ L DMSO, 震荡 10 min, 待结晶充分溶解后, 酶标仪测定 570 nm 下吸光度值 (A_{570}), 实验重复 3 次。计算细胞存活率。

细胞存活率 = (实验组 A_{570} - 空白组 A_{570}) / (正常组 A_{570} - 空白组 A_{570})

2.2.3 多巴氧化法测定化合物对 B16F10 细胞内酪氨酸酶活性的影响 参考已报道实验方法^[10-11]并稍作修改, 按“2.2.1”项下方法处理细胞 48 h 后, 弃去上清液, 用 PBS 洗涤 2 次, 每孔加入质量分数为 1% 的 Triton X-100 溶液 100 μ L, 迅速放入 -80 °C 冰箱冻存 1 h, 随后移至室温下裂解细胞, 37 °C 预温后每孔加入浓度为 10 mmol/L L-DOPA 100 μ L, 37 °C 培养箱放置 2 h, 酶标仪检测 475 nm 下吸光度值 (A_{475}), 实验重复 3 次。

酪氨酸酶活性 = (实验组 A_{475} - 空白组 A_{475}) / (正常组 A_{475} - 空白组 A_{475})

2.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (三氯甲烷-甲醇), 分子式 C₃₀H₄₈O₅, ESI-MS m/z : 487 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 0.77 (3H, s, H-23), 0.85 (3H, s, H-24), 0.91 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-30), 0.97 (6H, s, H-25, 26), 1.17 (3H, s, H-29), 1.33 (3H, s, H-27), 2.48 (3H, s, H-18), 3.30 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3), 3.91 (1H, dt, $J = 11.2, 3.2$ Hz, H-2), 5.27 (1H, t, $J = 3.2$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 41.1 (C-1), 65.8 (C-2), 78.7 (C-3), 38.0 (C-4), 47.9 (C-5, 17), 17.9 (C-6), 32.7 (C-7), 39.7 (C-8), 46.8 (C-9), 38.1 (C-10), 23.3 (C-11), 128.0 (C-12), 138.7 (C-13), 41.3 (C-14), 27.9 (C-15), 25.7 (C-16), 47.6 (C-17), 53.7 (C-18), 72.2 (C-19), 41.7 (C-20), 25.2 (C-21), 37.6 (C-22), 28.2 (C-23), 21.6 (C-24), 15.2 (C-25), 16.1 (C-26), 23.5 (C-27), 180.9 (C-28), 25.9 (C-29), 15.5 (C-30)。以上数据与文献报道的基本一致^[12], 故鉴定化合物 **1** 为野鸦椿酸。

化合物 **2**: 无色油状物 (甲醇), 分子式 C₂₉H₄₀O₅, ESI-MS m/z : 467 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 0.94 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-29), 1.13 (3H, s, H-26), 1.21 (3H, s, H-27), 1.24 (3H, s, H-30), 1.32 (3H, s, H-25), 1.57, 2.45 (2H, m, H-16), 2.00 (3H, s, H-23), 2.35, 2.82 (2H, m, H-6), 2.58 (1H, s, H-18), 5.40 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 6.31 (1H, s, H-1); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 126.2 (C-1), 145.0 (C-2), 181.8 (C-3), 126.4 (C-4), 166.8 (C-5), 25.2 (C-6), 34.7 (C-7), 40.0 (C-8), 45.0 (C-9), 43.5 (C-10), 25.8 (C-11),

127.7 (C-12), 139.1 (C-13), 42.2 (C-14), 28.6 (C-15), 25.4 (C-16), 47.8 (C-17), 53.9 (C-18), 72.0 (C-19), 41.7 (C-20), 25.6 (C-21), 37.4 (C-22), 9.4 (C-23), 20.3 (C-25), 15.9 (C-26), 22.9 (C-27), 181.8 (C-28), 15.2 (C-29), 27.2 (C-30)。以上数据与文献报道的基本一致^[13], 故鉴定化合物 **2** 为 negundonorin A。

化合物 **3**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 $C_{30}H_{44}O_5$, ESI-MS m/z : 485 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 0.91 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-30), 1.14 (3H, s, H-26), 1.21 (3H, s, H-25), 1.24 (3H, s, H-23), 1.26 (3H, s, H-29), 1.38 (3H, s, H-27), 5.38 (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-12), 6.32 (1H, s, H-1); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 129.0 (C-1), 146.0 (C-2), 202.4 (C-3), 45.5 (C-4), 55.3 (C-5), 20.3 (C-6), 34.0 (C-7), 39.5 (C-8), 44.1 (C-9), 43.1 (C-10), 24.7 (C-11), 130.2 (C-12), 140.4 (C-13), 43.0 (C-14), 29.6 (C-15), 27.1 (C-16), 49.1 (C-17), 55.1 (C-18), 73.5 (C-19), 41.7 (C-20), 26.6 (C-21), 39.0 (C-22), 28.1 (C-23), 22.3 (C-24), 20.1 (C-25), 17.9 (C-26), 24.9 (C-27), 182.28 (C-28), 27.3 (C-29), 16.6 (C-30)。以上数据与文献报道的基本一致^[14], 故鉴定化合物 **3** 为覆盆子酸。

化合物 **4**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 $C_{36}H_{58}O_{10}$, ESI-MS m/z : 649 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 0.74 (3H, s, H-26), 0.84 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-30), 0.96 (3H, s, H-25), 0.97 (3H, s, H-23), 1.18 (3H, s, H-27), 1.32 (3H, s, H-29), 2.49 (1H, s, H-18), 3.66 (1H, dd, $J=12.1, 4.8$ Hz, H-6a'), 3.78 (1H, dd, $J=12.1, 2.3$ Hz, H-6b'), 3.91 (1H, dt, $J=11.0, 3.1$ Hz, H-2), 5.29 (1H, t, $J=3.5$ Hz, H-12), 5.30 (1H, s, H-1'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 41.6 (C-1), 65.8 (C-2), 78.7 (C-3), 38.1 (C-4), 48.1 (C-5), 17.9 (C-6), 32.6 (C-7), 40.0 (C-8), 46.8 (C-9), 38.0 (C-10), 23.4 (C-11), 128.2 (C-12), 138.3 (C-13), 41.2 (C-14), 28.3 (C-15), 25.7 (C-16), 48.0 (C-17), 53.6 (C-18), 72.3 (C-19), 41.4 (C-20), 25.8 (C-21), 36.9 (C-22), 27.9 (C-23), 21.1 (C-24), 15.6 (C-25), 16.3 (C-26), 23.4 (C-27), 177.2 (C-28), 25.1 (C-29), 15.2 (C-30), 94.4 (C-1'), 72.5 (C-2'), 77.2 (C-3'), 69.7 (C-4'), 76.9 (C-5'), 61.0 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[15], 故鉴定化合物 **4** 为刺梨苷。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 $C_{36}H_{58}O_{10}$, ESI-MS m/z : 651 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 0.75 (3H, s, H-26), 0.78 (3H, s, H-19), 0.83

(1H, d, $J=12.1$ Hz, H-5), 0.87, 1.97 (2H, m, H-1), 0.91 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-30), 0.97 (3H, s, H-23), 0.99 (3H, s, H-25), 1.18 (3H, s, H-27), 1.21, 1.27 (2H, m, H-21), 1.30 (3H, s, H-29), 1.32, 1.50 (2H, m, H-15), 1.35 (1H, H-20), 1.41, 1.52 (2H, m, H-6), 1.59, 2.60 (2H, m, H-16), 1.61, 1.78 (2H, m, H-7), 1.68, 1.82 (2H, m, H-22), 1.71 (1H, m, H-9), 1.92 (1H, dd, $J=12.5, 4.6$ Hz, H-11a), 1.99 (1H, m, H-11b), 2.50 (1H, s, H-18), 2.89 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-3), 3.28~3.39 (4H, m, H-5'~2'), 3.61 (1H, m, H-2), 3.65 (1H, dd, $J=11.9, 4.7$ Hz, H-6a'), 3.78 (1H, dd, $J=12.1, 2.2$ Hz, H-6b'), 5.29 (1H, d, $J=5.9$ Hz, H-12), 5.35 (1H, s, H-1'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 47.2 (C-1), 68.1 (C-2), 83.1 (C-3), 39.1 (C-4), 55.3 (C-5), 18.3 (C-6), 36.9 (C-7), 41.3 (C-8), 46.8 (C-9), 37.8 (C-10), 23.4 (C-11), 128.1 (C-12), 138.3 (C-13), 40.0 (C-14), 32.7 (C-15), 25.1 (C-16), 48.1 (C-17), 53.5 (C-18), 72.4 (C-19), 41.5 (C-20), 25.7 (C-21), 28.2 (C-22), 27.9 (C-23), 15.7 (C-24), 15.3 (C-25), 16.2 (C-26), 23.3 (C-27), 177.1 (C-28), 25.8 (C-29), 16.1 (C-30), 94.4 (C-1'), 69.7 (C-2'), 72.2 (C-3'), 76.8 (C-4'), 77.2 (C-5'), 61.0 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[16], 故鉴定化合物 **5** 为野蔷薇苷。

化合物 **6**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 $C_{30}H_{46}O_5$, ESI-MS m/z : 487 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 0.76 (3H, s, H-26), 0.89 (3H, s, H-24), 0.99 (3H, s, H-23), 1.00 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-25), 1.09 (3H, d, $J=7.2$ Hz, H-30), 2.17 (3H, s, H-29), 2.19 (1H, s, H-9), 2.56 (1H, m, H-20), 3.38 (1H, s, H-3), 4.01 (1H, dt, $J=3.0, 10.8$ Hz, H-2), 5.44 (1H, s, H-18), 5.71 (1H, dd, $J=1.2, 10.2$ Hz, H-11), 6.01 (1H, dd, $J=3.0, 10.2$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 42.2 (C-1), 66.9 (C-2), 80.1 (C-3), 39.6 (C-4), 49.8 (C-5), 18.9 (C-6), 33.2 (C-7), 41.8 (C-8), 55.3 (C-9), 39.1 (C-10), 127.9 (C-11), 131.2 (C-12), 143.6 (C-13), 42.4 (C-14), 27.2 (C-15), 28.1 (C-16), 48.3 (C-17), 129.0 (C-18), 215.3 (C-19), 48.4 (C-20), 28.8 (C-21), 39.5 (C-22), 29.1 (C-23), 21.9 (C-24), 20.3 (C-25), 17.1 (C-26), 19.4 (C-27), 178.2 (C-28), 28.3 (C-29), 16.5 (C-30)。以上数据与文献报道的基本一致^[17], 故鉴定化合物 **6** 为 2 α ,3 α -dihydroxy-19-oxo-18,19-*seco*-urs-11,13(18)-dien-28-oic acid。

化合物 **7**: 白色粉末 (三氯甲烷), 分子式 $C_{35}H_{60}O_6$, ESI-MS m/z : 599 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600

MHz, C_5D_5N) δ : 0.58 (3H, s, H-18), 0.86~0.90 (9H, m, H-26, 27, 29), 0.93 (3H, s, H-19), 1.10 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-21), 2.37 (1H, m, H-4a), 2.63 (1H, d, J = 11.8 Hz, H-4b), 3.87~3.90 (2H, m, H-3, 5'), 3.95 (1H, dd, J = 8.7, 5.2 Hz, H-2'), 4.15~4.24 (2H, m, H-3', 4'), 4.32 (1H, dd, J = 10.6, 4.7 Hz, H-6a'), 4.46 (1H, d, J = 11.7 Hz, H-6b'), 4.95 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-1'), 5.25 (1H, s, H-5); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 37.2 (C-1), 30.0 (C-2), 78.3 (C-3), 39.0 (C-4), 140.6 (C-5), 121.6 (C-6), 31.9 (C-7), 31.8 (C-8), 50.0 (C-9), 36.6 (C-10), 21.0 (C-11), 40.0 (C-12), 42.2 (C-13), 56.5 (C-14), 24.2 (C-15), 28.3 (C-16), 56.0 (C-17), 11.9 (C-18), 19.7 (C-19), 36.1 (C-20), 19.1 (C-21), 33.9 (C-22), 26.1 (C-23), 45.7 (C-24), 29.2 (C-25), 18.7 (C-26), 18.9 (C-27), 23.1 (C-28), 11.7 (C-29), 102.3 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.3 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[18], 故鉴定化合物 7 为胡萝卜苷。

化合物 8: 黄色针状结晶 (甲醇), 分子式 $C_{17}H_{14}O_7$, ESI-MS m/z : 329 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.88 (6H, s, $-CH_3$), 6.20 (1H, s, H-6), 6.56 (1H, s, H-8), 6.95 (1H, s, H-3), 7.31 (2H, s, H-6', 2'), 13.00 (1H, s, 5-OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 164.1 (C-2), 104.0 (C-3), 182.3 (C-4), 161.8 (C-5), 99.3 (C-6), 164.1 (C-7), 94.7 (C-8), 157.8 (C-9), 104.1 (C-10), 120.8 (C-1'), 104.7 (C-6', 2'), 148.6 (C-3', 5'), 140.4 (C-4'), 56.8 ($-OCH_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[19], 故鉴定化合物 8 为小麦黄素。

化合物 9: 无色油状物 (丙酮), 分子式 $C_{17}H_{16}O_8$, ESI-MS m/z : 347 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, acetone- d_6) δ : 2.53 (1H, dd, J = 16.1, 7.3 Hz, H-4b), 2.80 (1H, dd, J = 16.3, 5.2 Hz, H-4a), 4.05 (1H, s, H-3), 4.06 (3H, s, H-2''), 4.76 (1H, d, J = 7.1 Hz, H-2), 5.92 (1H, s, H-6), 6.71 (1H, dd, J = 8.0, 2.4 Hz, H-6'), 6.80 (1H, dd, J = 2.2, 7.9 Hz, H-5'), 6.85 (1H, t, J = 2.4 Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (150 MHz, acetone- d_6) δ : 82.3 (C-2), 66.5 (C-3), 26.6 (C-4), 160.0 (C-5), 95.3 (C-6), 160.0 (C-7), 94.6 (C-8), 161.2 (C-9), 100.6 (C-10), 130.3 (C-1'), 114.0 (C-2'), 145.0 (C-3'), 145.1 (C-4'), 115.0 (C-5'), 118.7 (C-6'), 170.4 (C-1''), 52.2 (C-2'')。以上数据与文献报道的基本一致^[20], 故鉴定化合物 9 为 8-甲氧羰基儿茶素。

化合物 10: 无色结晶 (甲醇), 分子式 $C_{15}H_{12}O_5$,

ESI-MS m/z : 271 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.71 (1H, dd, J = 3.0, 17.1 Hz, H-3 cis), 3.16 (1H, dd, J = 12.8, 17.1 Hz, H-3 $trans$), 5.36 (1H, dd, J = 2.9, 12.9 Hz, H-2), 5.92 (2H, dd, J = 2.2, 7.4 Hz, H-6, 8), 6.84 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 7.33 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 79.1 (C-2), 42.6 (C-3), 196.3 (C-4), 164.1 (C-5), 94.8 (C-6), 167.0 (C-7), 95.7 (C-8), 163.5 (C-9), 102.0 (C-10), 129.7 (C-1'), 127.7 (C-6', 2'), 115.0 (C-3', 5'), 157.6 (C-4')。以上数据与文献报道的基本一致^[21], 故鉴定化合物 10 为柚皮素。

化合物 11: 黄色针晶 (甲醇), 分子式 $C_{15}H_{10}O_7$, ESI-MS m/z : 301 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.23 (1H, d, J = 1.3 Hz, H-6), 6.44 (1H, s, H-6), 6.93 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.65 (1H, dd, J = 8.4, 1.3 Hz, H-6'), 7.75 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 146.8 (C-2), 135.8 (C-3), 176.0 (C-4), 103.2 (C-4a), 156.8 (C-5), 98.0 (C-6), 164.1 (C-7), 93.2 (C-8), 163.9 (C-8a), 122.7 (C-1'), 115.0 (C-2'), 144.8 (C-3'), 147.4 (C-4'), 114.7 (C-5'), 120.4 (C-6')。以上数据与文献报道的基本一致^[22], 故鉴定化合物 11 为槲皮素。

化合物 12: 白色粉末 (三氯甲烷), 分子式 $C_{16}H_{10}O_8$, ESI-MS m/z : 331 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.04 (6H, s, $2 \times OCH_3$), 7.51 (2H, s, H-5, 5''); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 112.1 (C-1, 1'), 141.6 (C-2, 2'), 140.7 (C-3, 3'), 152.7 (C-4, 4'), 111.9 (C-5, 5'), 112.6 (C-6, 6'), 159.0 (C-7, 7'), 61.4 ($2 \times OCH_3$)。以上数据与文献报道的基本一致^[23], 故鉴定化合物 12 为 3,3'- O -二甲基鞣花酸。

化合物 13: 白色粉末 (甲醇), 分子式 $C_{20}H_{22}O_7$, ESI-MS m/z : 375 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.71 (1H, t, J = 6.9 Hz, H-5 α), 3.46 (1H, d, J = 10.3 Hz, H-8 α), 3.64 (1H, d, J = 10.3 Hz, H-8 β), 3.87 (6H, s, 3', 3''- OCH_3), 4.02 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4 β), 4.10 (1H, dd, J = 6.5, 9.5 Hz, H-4 α), 4.45 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-6 α), 4.68 (1H, s, H-2 α), 6.80 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6''), 6.82 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5''), 6.87 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.94 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-2''), 7.06 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-6'), 7.09 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 92.8 (C-1), 85.8 (C-2), 69.2 (C-4), 62.5 (C-5), 89.1 (C-6), 75.8 (C-8), 128.8 (C-1'), 108.7 (C-2'), 147.3 (C-3'), 145.6 (C-4'),

114.6 (C-5'), 117.7 (C-6'), 132.0 (C-1''), 109.7 (C-2''), 147.8 (C-3''), 146.1 (C-4''), 114.6 (C-5''), 119.2 (C-6''), 55.0 (3', 3''-OCH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[24], 故鉴定化合物 **13** 为 1-hydroxy-2,6-bis-*epi*-pinoresinol。

化合物 **14**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 C₁₀H₈O₄, ESI-MS *m/z*: 193 [M + H]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 3.93 (3H, s, 6-OCH₃), 6.22 (1H, d, *J* = 9.4 Hz, H-3), 6.79 (1H, s, H-8), 7.13 (1H, s, H-5), 7.87 (1H, d, *J* = 9.4 Hz, H-4); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 162.8 (C-2), 111.2 (C-3), 144.8 (C-4), 108.5 (C-5), 145.7 (C-6), 150.0 (C-7), 102.6 (C-8), 151.5 (C-9), 111.2 (C-10), 55.4 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[25], 故鉴定化合物 **14** 为东莨菪素。

化合物 **15**: 白色无定型粉末 (甲醇), 分子式 C₉H₇NO, ESI-MS *m/z*: 144 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.27 (1H, m, H-5), 7.29 (1H, m, H-6), 7.50 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-2), 8.12 (1H, s, H-4), 8.19 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-7), 9.91 (1H, s, H-8); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 138.4 (C-2), 118.7 (C-3), 124.3 (C-3a), 121.0 (C-4), 122.3 (C-5), 123.6 (C-6), 111.8 (C-7), 138.4 (C-7a), 186.1 (C-8)。以上数据与文献报道的基本一致^[26], 故鉴定化合物 **15** 为 3-吡啶甲醛。

化合物 **16**: 淡黄色针状结晶 (三氯甲烷-甲醇), 分子式 C₁₄H₁₀O₈, ESI-MS *m/z*: 305 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.45 (1H, dd, *J* = 18.8, 2.1 Hz, H-10b), 2.95 (1H, dd, *J* = 18.6, 7.8 Hz, H-10a), 3.61 (3H, s, -OCH₃), 4.36 (1H, dd, *J* = 7.7, 2.0 Hz, H-9), 7.24 (1H, s, H-7); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 146.2 (C-2), 138.7 (C-3), 113.4 (C-3a), 143.9 (C-4), 140.6 (C-5), 150.0 (C-6), 108.4 (C-7), 115.3 (C-7a), 160.1 (C-8), 41.0 (C-9), 37.3 (C-10), 193.4 (C-11), 173.0 (C=O), 52.5 (-OCH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[27], 故鉴定化合物 **16** 为短叶苏木酚酸甲酯。

化合物 **17**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 C₂₂H₂₆O₁₃, ESI-MS *m/z*: 497 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 3.43 (3H, m, H-3'~5'), 3.65 (6H, s, OCH₃-3,5), 3.66 (3H, s, 4-OCH₃), 3.78 (1H, m, H-2'), 4.40 (1H, dd, *J* = 11.9, 6.6 Hz, H-6'b), 4.63 (1H, dd, *J* = 12.0, 1.9 Hz, H-6'a), 4.84 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 6.38 (2H, s, H-2, 6), 7.01 (2H, s, H-2'', 6''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 154.5 (C-1), 94.5 (C-2, 6), 153.3 (C-3, 5), 133.2 (C-4), 59.9 (3, 5-OCH₃), 55.1 (4-OCH₃), 101.8

(C-1'), 73.5 (C-2'), 76.2 (C-3'), 70.4 (C-4'), 74.4 (C-5'), 63.7 (C-6'), 119.9 (C-1''), 108.8 (C-2'', 6''), 145.2 (C-3'', 5''), 138.6 (C-4''), 166.9 (C-7'')。以上数据与文献报道的基本一致^[28], 故鉴定化合物 **17** 为 3,4,5-trimethoxyphenyl-(6'-*O*-galloyl)-*O*- β -*D*-glucopyranoside。

化合物 **18**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 C₈H₈O₅, ESI-MS *m/z*: 185 [M + H]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 3.83 (3H, s, -OCH₃), 7.10 (2H, s, H-2, 6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 51.0 (-OCH₃), 120.1 (C-1), 108.7 (C-2, 6), 145.1 (C-3, 5), 138.4 (C-4), 167.7 (C=O)。以上数据与文献报道的基本一致^[29], 故鉴定化合物 **18** 为没食子酸甲酯。

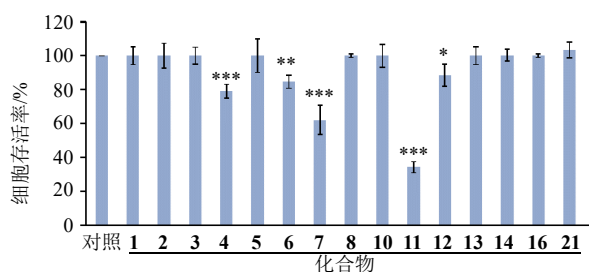
化合物 **19**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 C₇H₆O₄, ESI-MS *m/z*: 155 [M + H]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.82 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 7.45 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6), 7.46 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 121.7 (C-1), 116.3 (C-2), 144.7 (C-3), 150.1 (C-4), 114.4 (C-5), 122.5 (C-6), 169.0 (C=O)。以上数据与文献报道的基本一致^[30], 故鉴定化合物 **19** 为原儿茶酸。

化合物 **20**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 C₁₀H₁₂O₄, ESI-MS *m/z*: 219 [M + Na]⁺。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 3.12 (2H, d, *J* = 5.6 Hz, H-2'), 3.87 (3H, s, -OCH₃), 3.92 (2H, d, *J* = 5.9 Hz, H-3'), 6.83 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 7.52 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2), 7.55 (1H, d, *J* = 7.3 Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 130.5 (C-1), 111.8 (C-2), 149.1 (C-3), 115.8 (C-5), 124.7 (C-6), 199.7 (C-1'), 41.6 (C-2'), 58.9 (C-3'), 56.3 (-OCH₃)。以上数据与文献报道的基本一致^[31], 故鉴定化合物 **20** 为 β -羟基-3-甲氧基-4-羟苯基乙酮。

化合物 **21**: 无色结晶 (三氯甲烷-甲醇), 分子式 C₈H₈O₄, ESI-MS *m/z*: 167 [M - H]⁻。 ¹H-NMR (600 MHz, acetone-*d*₆) δ : 3.91 (3H, s, -OCH₃), 6.92 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 7.57 (1H, s, H-2), 7.61 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, acetone-*d*₆) δ : 122.0 (C-1), 112.6 (C-2), 147.2 (C-3), 151.2 (C-4), 114.6 (C-5), 124.0 (C-6), 55.4 (-OCH₃), 167.5 (-COOH)。以上数据与文献报道的基本一致^[32], 故鉴定化合物 **21** 为异香草酸。

3.2 化合物酪氨酸酶抑制活性筛选

3.2.1 扁刺峨眉蔷薇化合物对 B16F10 的细胞毒性选择其中 15 个化合物在浓度为 40 μ mol/L 的条件下进行 B16F10 细胞毒性评价, 结果如图 1 所示, 与



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下图同。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group, same as Fig. below.

图 1 扁刺峨眉蔷薇化合物 ($40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对 B16F10 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effect of compounds from *R. omeiensis* f. *pteracantha* ($40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) on cell proliferation of B16F10 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

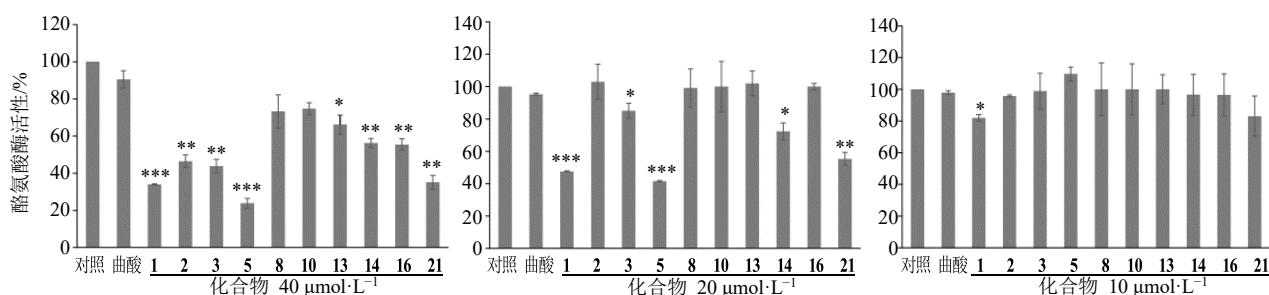


图 2 扁刺峨眉蔷薇化合物对 B16F10 细胞内酪氨酸酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of compounds from *R. omeiensis* f. *pteracantha* on tyrosinase activity of B16F10 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

5、14、21 具有显著的酪氨酸酶抑制活性; 浓度降至 $10 \mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 1 依然表现出显著的酪氨酸酶抑制活性。值得注意的是, 以上化合物的酪氨酸酶抑制活性均高于阳性药曲酸。

4 讨论

本研究从扁刺峨眉蔷薇 75% 甲醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中共分离得到 21 个化合物, 其中黄酮类 4 个, 萜类 7 个, 酚酸类 6 个, 木质素类 2 个, 香豆素类 1 个, 其他类型 1 个。所有化合物均首次从该植物中分离得到, 其中化合物 2、6、12、15、17、20 为首次从蔷薇属中分离得到。本研究主要目的是为了评价扁刺峨眉蔷薇中萜类及黄酮类化合物抑制酪氨酸酶活性的作用, 因此选择化合物 1~8、10~14、16、21 对 B16F10 中酪氨酸酶的抑制活性进行评价, 结果显示化合物 1~3、5、13、14、16、21 在浓度 $40 \mu\text{mol/L}$ 时对酪氨酸酶活性有显著抑制作用, 其中化合物 5 活性最高; 化合物 4、6、7 在浓度 $40 \mu\text{mol/L}$ 时对 B16F10 细胞存在一定的细胞毒性, 可能会对人体皮肤有一定损伤, 因此未做酪氨酸酶抑制活性评价。化合物 1~3、5 为三萜类化

对照组比较, 在 $40 \mu\text{mol/L}$ 浓度下, 化合物 4、6、7、11、12 对 B16F10 细胞有较显著的细胞毒 ($P < 0.05$); 而化合物 1~3、5、8、10、13~14、16、21 对 B16F10 细胞未表现出细胞毒性, 因此, 后续对在 $40 \mu\text{mol/L}$ 浓度下无细胞毒性的化合物继续进行抑制酪氨酸酶活性评价。

3.2.2 扁刺峨眉蔷薇化合物对 B16F10 细胞内酪氨酸酶活性的影响 实验组设置为 3 个不同浓度 (10 、 20 、 $40 \mu\text{mol/L}$), 评价上述 $40 \mu\text{mol/L}$ 浓度下无细胞毒化合物对 B16F10 细胞内酪氨酸酶的抑制活性。结果见图 2, 在 $40 \mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 1~3、5、13、14、16、21 对酪氨酸酶有显著抑制活性, 其中, 化合物 5 活性最强; 在 $20 \mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 1、3、

合物。由此推测, 三萜类型化合物可能是扁刺峨眉蔷薇中主要的美白功效成分。说明扁刺峨眉蔷薇中还未被发现的三萜类化合物可能同样具有潜在美白作用, 有较高深入研究价值。

相较于化学药, 中药具有安全性更高、作用更平缓、不良反应相对更小的优点, 在化妆品制剂中更具有应用优势, 早在两千多年前, 我国对美白祛斑类中药就有钻研, 如当归、白芍、辛夷、丹参、甘草、白茯苓等早就作为传统美白物质被广泛应用。已有研究表明, 茯苓总三萜和茯苓新酸 A 具有抗氧化活性、抑制蘑菇酪氨酸酶活性及对 B16F10 细胞酪氨酸酶活性均有抑制作用^[33], 松茸总三萜对 B16F10 细胞虽无抑制作用, 但可以通过减少黑色素合成和抑制酪氨酸酶活性途径达到美白效果^[34], 同时, 有研究表明, 刺梨 *Rosa roxburghii* Tratt. 中多糖、黄酮和多酚 3 种提取物均能抑制 B16F10 酪氨酸酶活性, 且黄酮类化合物抑制活性最佳^[6], 扁刺峨眉蔷薇作为具有药食同源特性的植物, 果实味甘, 可食用, 无不良反应, 因此, 在作为美白化妆品原料开发发面可能具有很高的潜力。本研究首次研究了

扁刺峨眉蔷薇提取物的化学成分, 并证实了其化合物的酪氨酸酶抑制活性, 实验结果表明, 扁刺峨眉蔷薇中含有大量的黄酮类、三萜类及酚酸类化合物, 且其中三萜类化合物具有显著的酪氨酸酶抑制活性, 证明了扁刺峨眉蔷薇具有潜在的美白功效, 为其应用于化妆品开发提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

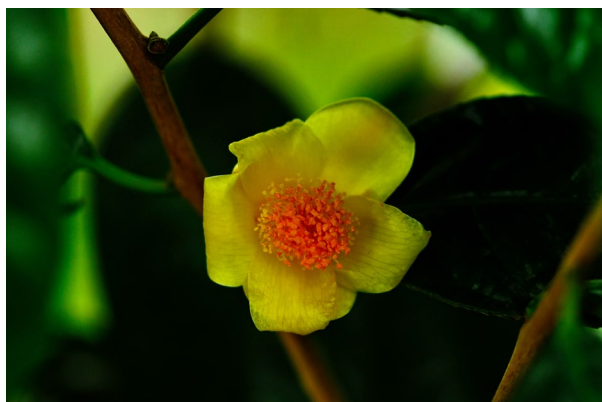
- [1] 徐学涛, 张焜, 杜志云, 等. 天然产物对酪氨酸酶抑制作用的研究进展 [J]. 广东化工, 2007, 34(11): 53-56.
- [2] 杨壮群, 王正辉, 荔鹏, 等. 芦荟苦素对体外培养的黑素细胞影响的实验研究 [J]. 中国美容医学, 2003, 12(5): 464-466.
- [3] 霍仕霞, 康雨彤, 彭晓明, 等. 高良姜总黄酮对 B16 细胞增殖和酪氨酸酶活性及黑素合成的影响 [J]. 医药导报, 2013, 32(7): 855-858.
- [4] 杜凌, 吴洪娥, 周洪英, 等. 贵州蔷薇属植物资源研究 [J]. 贵州林业科技, 2018, 46(1): 19-21.
- [5] 侯少平, 侯敏娜. 蔷薇属植物化学成分研究进展 [J]. 化学与生物工程, 2021, 38(1): 11-16.
- [6] 许梦捷, 刘祖望, 李祯鑫, 等. 刺梨不同提取成分对 B16 细胞增殖及酪氨酸酶活性的影响 [J]. 浙江中医药大学学报, 2018, 42(11): 883-889.
- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第三十七卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1985: 384.
- [8] 钱子刚, 李安华. 高黎贡山药用植物名录 [M]. 北京: 科学出版社, 2008: 114.
- [9] 郑雅婷, 张泽钧, 林静柔, 等. 桑黄乙醇提取物的美白功效评价 [J]. 食用菌学报, 2019, 26(1): 55-62.
- [10] 杨安全, 王菁, 沈玥琦, 等. 珍珠提取物对黑色素细胞酪氨酸酶活性和黑色素合成的影响 [J]. 药物生物技术, 2018, 25(4): 312-315.
- [11] Zhang J C, Wang C T, Wang C T, *et al.* Understanding the role of extracts from sea buckthorn seed residues in anti-melanogenesis properties on B16F10 melanoma cells [J]. *Food Funct*, 2018, 9(10): 5402-5416.
- [12] Machado E C, Yunes R A, Malheiros A, *et al.* Two new 11 α , 12 α -epoxy-ursan-28, 13 β -olides and other triterpenes from *Cecropia catharinensis* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(15): 1310-1316.
- [13] Zheng C J, Pu J, Zhang H, *et al.* Sesquiterpenoids and nortriterpenoids from *Vitex negundo* [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(1): 49-54.
- [14] 高冰, 苏艳芳, 张杰, 等. α -葡萄糖苷酶抑制作用导向分离翻白草活性成分 [J]. 中草药, 2021, 52(15): 4473-4479.
- [15] Yuan C M, Huang L H, Suh J H, *et al.* Bioactivity-guided isolation and identification of antiadipogenic compounds in shiya tea (leaves of *Adinandra nitida*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(24): 6785-6791.
- [16] Enayati A, Salehi A, Alilou M, *et al.* Six new triterpenoids from the root of *Potentilla reptans* and their cardioprotective effects *in silico* [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(10): 2504-2512.
- [17] Thoa N T K, Ban N K, Trang D T, *et al.* Flavonoids and other compounds from *Vitex limonifolia* [J]. *Vietnam J Chem*, 2018, 56(6): 679-683.
- [18] Isaev I M, Mamedova R P, Agzamova M A, *et al.* Triterpene glycosides from *Astragalus* and their genins. LXXXV. sterols and triterpenoids from *Astragalus orbiculatus* [J]. *Chem Nat Compd*, 2007, 43(3): 358-359.
- [19] Li H B, Zhou C X, Pan Y X, *et al.* Evaluation of antiviral activity of compounds isolated from *Ranunculus sieboldii* and *Ranunculus sceleratus* [J]. *Planta Med*, 2005, 71(12): 1128-1133.
- [20] Liu Y, Lu Z, Wang M, *et al.* Catechins and lignan from the flower buds of *Rosa chinensis* Jacq. [J]. *Phytochem Lett*, 2020, 38: 46-48.
- [21] Zhang S X, Tani T, Yamaji S, *et al.* Glycosyl flavonoids from the roots and rhizomes of *Asarum longerhizomatosum* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2003, 5(1): 25-30.
- [22] Sun J, He X M, Zhao M M, *et al.* Antioxidant and nitrite-scavenging capacities of phenolic compounds from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) tops [J]. *Molecules*, 2014, 19(9): 13147-13160.
- [23] Wu S H, Shen Y M, Chen Y W, *et al.* Studies on chemical constituents from stem bark of *Trewia nudiflora* [J]. *China J Chin Mater Med*, 2008, 33(13): 1566-1568.
- [24] Gu J Q, Wang Y H, Franzblau S G, *et al.* Antitubercular constituents of *Valeriana laxiflora* [J]. *Planta Med*, 2004, 70(6): 509-514.
- [25] Lee J, Kim N H, Nam J W, *et al.* Scopoletin from the flower buds of *Magnolia fargesii* inhibits protein glycation, aldose reductase, and cataractogenesis *ex vivo* [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(9): 1317-1323.
- [26] 张岗, 陈军, 许莉, 等. 养殖叶片山海绵 (*Mycale phyllophila*) 次生代谢产物的研究 [J]. 中国海洋药物, 2018, 37(4): 17-22.
- [27] 肖洪明, 祖灵博, 李石平, 等. 掌叶覆盆子化学成分的研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2011, 21(3): 220-226.
- [28] Chen H F, Li M L, Zhang C, *et al.* Isolation and identification of the anti-oxidant constituents from *Loropetalum chinense* (R. brown) Oliv. based on UHPLC-Q-

- TOF-MS/MS [J]. *Molecules*, 2018, 23(7): 1720.
- [29] Badr J M, Shaala L A, Youssef D T A. Loranthin: A new polyhydroxylated flavanocoumarin from *Plicosepalus acacia* with significant free radical scavenging and antimicrobial activity [J]. *Phytochem Lett*, 2013, 6(1): 113-117.
- [30] Lee S Y, Kim K H, Lee I K, et al. A new flavonol glycoside from *Hylomecon vernalis* [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(3): 415-421.
- [31] 罗川, 张万年, 杨美灵. 米邦塔仙人掌化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(6): 1038-1040.
- [32] 陈林, 康文艺. 长茎芒毛苣苔化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2758-2760.
- [33] 胡淑华. 茯苓三萜类化合物的美白功效研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2017.
- [34] 刘俊红, 褚佳豪, 宫晓庆, 等. 松茸总三萜的提取工艺及其美白功效研究 [J]. 当代化工, 2022, 51(9): 2110-2113.

[责任编辑 王文倩]

• 封面图片介绍 •

金花茶



金花茶 *Camellia petelotii* (Merr.) Sealy 山茶科山茶属木本植物。幼枝浅褐色，当年生小枝略带紫色棕色，无毛；叶革质，上面深绿色，发亮，无毛，下面浅绿色；花柄长 7~10 mm；苞片 5 片，散生，阔卵形，长 2~3 mm，宽 3~5 mm，宿存；萼片 5 片，卵圆形至圆形，长 4~8 mm，宽 7~8 mm，基部略连生，先端圆，背面略有微毛；花瓣 8~12 片，近圆形，长 1.5~3.0 cm，宽 1.2~2.0 cm，基部略相连生，边缘有睫毛；雄蕊排成 4 轮，外轮与花瓣略相连生，花丝近离生或稍连合，无毛，长 1.2 cm；子房无毛，3~4 室，花柱 3~4 条，无毛，

长 1.8 cm。每年 1~4 月开花，花期长。金花茶因花朵纯黄似金而得名。

金花茶，是一种山茶科山茶属植物的花朵，可用来食用、入药，非常珍贵，用金花茶冲泡出来的茶，不但茶汤金黄，而且营养丰富，有益于养生，具有清热止渴、润肺止咳、调节血脂等功效。

(封面图片 由南宁青秀山风景名胜旅游开发有限责任公司 黎舒 提供)