

芫花枝叶三萜类化学成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

薛俊娟¹, 叶国华¹, 魏国栋^{1,2,3}, 王雷清¹, 杨 丹¹, 李 波^{1,2,3}

1. 山东中医药高等专科学校 中药系, 山东 烟台 264199

2. 山东省高等学校 中药生产与质量控制新技术研发中心, 山东 烟台 264199

3. 黄河流域道地药材产业高质量发展协同创新中心, 山东 烟台 264199

摘要: 目的 研究芫花 *Daphne genkwa* 枝叶中三萜类成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性。方法 运用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、半制备高效液相色谱及重结晶等多种分离方法进行分离纯化, 根据理化性质以及波谱数据对分离的单体化合物进行结构鉴定, 对获得的化合物测定 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结果 从芫花 95%乙醇提取物中共分离得到 20 个三萜类化合物, 分别鉴定为山楂酸 (1)、常春藤皂苷元 (2)、齐墩果酸 (3)、 $3\beta,13\beta$ -dihydroxyolean-11-en-28-oic acid (4)、11-oxoerythrodiol (5)、 3β -hydroxy-11-oxo-olean-12-en-28-oic acid (6)、坡模酸 (7)、 3β -hydroxyolean-12-en-28-aldehyde (8)、 3β -hydroxyolean-12-en-11-one (9)、3-羧基齐墩果酸 (10)、古柯二醇 (11)、oleanolic acid 2-oxopropyl ester (12)、熊果酸 (13)、ilelatifol A (14)、 3β -hydroxy-11-oxours-12-en-28-oic acid (15)、 $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid (16)、 3β -hydroxy-11-oxo-ursan-12-ene (17)、2-oxopropyl(3β)-3-hydroxyurs-12-en-28-oate (18)、熊果醛 (19) 和 11 α -methoxyurs-12-ene- $3\beta,12$ -diol (20)。其中化合物 1、3、4、13、15 和 16 对 α -葡萄糖苷酶具有较明显的抑制活性。结论 化合物 6 为首次从芫花中分离得到。化合物 1~5、7~20 为瑞香属内首次分离得到。化合物 1、3、4、13、15 和 16 表现出高于阳性对照阿卡波糖的 α -葡萄糖苷酶的抑制活性, 这表明芫花的枝叶中含具有降糖作用的天然活性分子。

关键词: 芫花; 齐墩果烷型三萜; 乌苏烷型三萜; α -葡萄糖苷酶抑制活性; 山楂酸; 常春藤皂苷元; 齐墩果酸

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)08-2524-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.08.003

Chemical constituents from branches and leaves of *Daphne genkwa* and their α -glucosidase inhibitory activities

XUE Junjuan¹, YE Guohua¹, WEI Guodong^{1,2,3}, WANG Leiqing¹, YANG Dan¹, LI Bo^{1,2,3}

1. Department of Traditional Chinese Medicine, Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264199, China

2. New Technology Research and Development Center of Traditional Chinese Medicine Production and Quality Control in Universities of Shandong Province, Yantai 264199, China

3. Collaborative Innovation Center for High-quality Development of Genuine Medicinal Materials Industry in the Yellow River Basin, Yantai 264199, China

Abstract: Objective To investigate the triterpenoid constituents and their inhibitory effect on α -glucosidase found in the branches and leaves of Yuanhua (*Daphne genkwa* Sieb. et Zucc). **Methods** The 95% ethanol extract of *D. genkwa* was separated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, semi-preparative HPLC and other separation methods, and the structures of the isolates were identified according to the physical and chemical properties as well as spectral data. The inhibitory effect on α -glucosidase of the obtained compounds was examined. **Results** A total of 20 triterpenoids were elucidated as maslinic acid (1), hederagenin (2), oleanolic acid (3), $3\beta,13\beta$ -dihydroxyolean-11-en-28-oic acid (4), 11-oxoerythrodiol (5), 3β -hydroxy-11-oxo-olean-12-en-28-oic acid (6), pomolic acid (7), 3β -hydroxyolean-12-en-28-aldehyde (8), 3β -hydroxyolean-12-en-11-one (9), 3-oxo-oleanolic acid (10), erythrodiol (11), oleanolic acid 2-oxopropyl ester (12), ursolic acid (13), ilelatifol A (14), 3β -hydroxy-11-oxours-12-en-28-oic acid (15), $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid (16), 3β -hydroxy-11-oxo-ursan-12-ene (17), 2-oxopropyl(3β)-3-hydroxyurs-12-en-28-oate (18), ursolic aldehyde (19)

收稿日期: 2024-01-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (22177016); 山东省中医药科技发展计划项目 (2020M037); 2019 年医疗服务与保障能力提升补助资金“全国中药资源普查项目” (财社 [2019] 39 号)

作者简介: 薛俊娟 (1979—), 女, 讲师, 硕士, 从事天然药物化学研究。E-mail: 304132729@qq.com

and 11 α -methoxyurs-12-ene-3 β ,12-diol (**20**). Amongst, compounds **1**, **3**, **4**, **13**, **15** and **16** were observed with good inhibitory activity against α -glucosidase. **Conclusion** Compound **6** was reported from *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc for the first time. Compounds **1-5** and **7-20** were reported from *Daphne* genus for the first time. Compounds **1**, **3**, **4**, **13**, **15** and **16** displayed superior inhibitory activity compared to the positive control acarbose against α -glucosidase. This suggests the presence of bioactive constituents with hypoglycemic activity in the branches and leaves of *D. genkwa*.

Key words: *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc; oleanane triterpenoid; ursane triterpenoid; α -glucosidase inhibitory activity; maslinic acid; hederagenin; oleanolic acid

芫花 *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc 是瑞香科瑞香属植物，多分枝，花期 3~5 月，果期 6~7 月。生于海拔 300~1 000 m，宜温暖的气候，性耐旱怕涝，广泛分布于河北、山西、陕西、甘肃、山东、江苏、安徽、浙江、江西、福建、台湾、河南、湖北、湖南、四川、贵州等省。其性温，味辛苦，有大毒。“芫花”之名来源于《神农本草经》，在其春季花尚未开时，采其花蕾干燥后入药，具有泻水逐饮、解毒杀虫等功效，常用于水肿胀满、痰饮急剧、气逆喘咳、二便不利等症。芫花的根皮也可药用，有消肿解毒、活血化瘀之效，可用于急性乳腺炎、痈疽肿毒、淋巴结结核、腹水、风湿痛、牙痛、跌打损伤等症。芫花具有广泛的生物活性，近年来关于其提取物如羟基芫花素、瑞香烷二萜等的研究屡见报道，芫花在抗病毒、抗肿瘤以及神经保护等方面有明显作用^[1-4]。

目前对于芫花中活性成分的研究主要集中在花蕾和根部，为了进一步探明芫花枝叶的化学成分，开发枝叶的药用价值，本课题着重研究芫花枝叶部位三萜类化学成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性，共分离鉴定 20 个三萜类化合物，主要包括乌苏烷型三萜与齐墩果烷型三萜，包括山楂酸(maslinic acid, **1**)、常春藤皂苷元(hederagenin, **2**)、齐墩果酸(oleanolic acid, **3**)、3 β ,13 β -dihydroxyolean-11-en-28-oic acid (**4**)、11-oxoerythrodil (**5**)、3 β -hydroxy-11-oxo-olean-12-en-28-oic acid (**6**)、坡模酸(pomolic acid, **7**)、3 β -hydroxyolean-12-en-28-aldehyde (**8**)、3 β -hydroxyolean-12-en-11-one (**9**)、3-羧基齐墩果酸(3-oxo-oleanolic acid, **10**)、古柯二醇(erythrodil, **11**)、oleanolic acid 2-oxopropyl ester (**12**)、熊果酸(ursolic acid, **13**)、ilelatifol A (**14**)、3 β -hydroxy-11-oxours-12-en-28-oic acid (**15**)、2 α ,3 β -dihydroxyurs-12-en-28-oic acid (**16**)、3 β -hydroxy-11-oxo-ursan-12-ene (**17**)、2-oxopropyl(3 β)-3-hydroxyurs-12-en-28-oate (**18**)、熊果醛(ursolic aldehyde, **19**)和 11 α -methoxyurs-12-ene-3 β ,12-diol (**20**)。化合物 **6** 为首

次从芫花中分离得到。化合物 **1~5**、**7~20** 为瑞香属首次分离得到。其中化合物 **1**、**3**、**4**、**13**、**15** 和 **16** 表现出高于阳性对照阿卡波糖的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

1 仪器与材料

Bruker Avance DRX-600 型核磁共振光谱仪(德国 Bruker 公司); Agilent 6545 QTOF 型质谱仪、Agilent 1260-6460 型三重四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司); 岛津 LC-20A 型型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); R-100 型旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); YMC-Pack ODS-A 型色谱柱(250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m, 日本 YMC 株式会社); D101-大孔吸附树脂(上海东鸿化工有限公司); Sephadex LH-20 (瑞典 GE 医疗生命科学公司); 薄层色谱硅胶板 GF₂₅₄ 及 300~400 目硅胶(青岛海洋化工有限公司); 用于柱色谱的所有溶剂均为分析级(天津富宇精细化工有限公司); 用于 HPLC 的溶剂为色谱级(瑞典欧森巴克化学公司)。阿卡波糖(acarbose, 批号 A3230505001, 质量分数 $\geq$ 98%), 北京索莱宝科技有限公司。

芫花于 2019 年 6 月采自山东省莱阳市, 由山东中医药高等专科学校中药系魏国栋副教授鉴定为瑞香科瑞香属植物芫花 *D. genkwa* Sieb. et Zucc 的枝叶。样品标本(2019-06-DG)保藏于山东中医药高等专科学校中药系。

2 提取与分离

芫花干燥枝叶(5.0 kg), 粉碎成粉末后用 95% 乙醇室温提取 3 次(每次用溶剂 40 L, 7 d/次)。提取液经减压蒸馏得到粗浸膏(500.2 g), 粗浸膏加水混悬后依次用醋酸乙酯和正丁醇溶液萃取分别萃取 3 次, 减压浓缩后得到醋酸乙酯浸膏(255.3 g)。将醋酸乙酯浸膏进行 D-101 大孔树脂柱色谱, 依次用 30%、50%、80%、95%的乙醇-水梯度洗脱。80%的馏分减压浓缩得到浸膏 60.5 g, 经过硅胶柱色谱粗分离(100~200 目), 以石油醚-醋酸乙酯(10:1~0:1)梯度洗脱, 得到 9 个组分(A~I)。

E 段 (2.8 g) 经过 RP₁₈ 反相柱色谱以甲醇-水体系 (60%~100%) 进行梯度洗脱, 得到 8 个馏分 E-F1~E-F8。E-F1 (300.0 mg) 通过半制备 HPLC (85% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **12** (3.3 mg, $t_R=20$ min) 和 **18** (5.2 mg, $t_R=21$ min)。E-F2 (800.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 色谱后通过半制备 HPLC (85% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **10** (2.1 mg, $t_R=13$ min) 和 **11** (15.3 mg, $t_R=17$ min)。E-F3 (500.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 色谱后通过半制备 HPLC (75% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **17** (2.8 mg, $t_R=10$ min) 和 **9** (2.9 mg, $t_R=13$ min)。E-F6 (800.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 柱色谱后通过半制备 HPLC (68% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **8** (10.1 mg, $t_R=20$ min)、**19** (30.1 mg, $t_R=28$ min) 和 **20** (4.4 mg, $t_R=40$ min)。

F 段 (2.0 g) 以二氯甲烷-甲醇 (1:0~100:1) 梯度洗脱得到 5 个馏份 F-S1~F-S5。F-S4 (300.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 色谱后通过半制备 HPLC (55% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **2** (3.0 mg, $t_R=20$ min)。F-S5 (200.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 色谱后通过半制备 HPLC (60% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **1** (3.0 mg, $t_R=34$ min) 和 **16** (5.1 mg, $t_R=42$ min)。

G 段 (7.0 g) 进行 RP₁₈ 反相柱色谱, 以 60%~100% 的甲醇-水进行梯度洗脱得到 10 个部分, G-F1~F10。G-F10 (800.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (100% 甲醇) 色谱后通过半制备液相 HPLC (50% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **4** (30.0 mg, $t_R=25$ min)。G-F9 (500.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (100% 甲醇) 色谱后通过半制备液相 HPLC (69% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **6** (2.0 mg, $t_R=18$ min)、**15** (2.3 mg, $t_R=20$ min) 和 **7** (2 mg, $t_R=23$ min)。G-F7 (500.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶 (100% 甲醇) 色谱后通过半制备液相 HPLC (70% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **5** (7.6 mg, $t_R=39$ min) 和 **14** (4.7 mg, $t_R=36$ min)。

H 段 (5.0 g) 以二氯甲烷-甲醇 (1:0~100:1) 梯度洗脱进行硅胶柱色谱分离, 得到 3 个部分 H-S1~H-S3。H-S2 (3.0 g) 经过反复重结晶得到化合物 **13** (2.0 g)。H-S2 (500.0 mg) 经过 Sephadex LH-20 凝胶色谱柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 后经过

半制备 HPLC (88% 乙腈-水) 纯化得到化合物 **3** (5.6 mg, $t_R=26.5$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 473.4 $[M+H]^+$, 推测该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$, 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 5.49 (1H, t, $J=3.8$ Hz, H-12), 4.12 (1H, m, H-2), 3.42 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 3.32 (1H, dd, $J=14.0, 4.6$ Hz, H-18), 2.27 (1H, dd, $J=12.4, 4.5$ Hz, H-1a), 2.10 (2H, m, H₂-11), 2.08 (1H, m, H-22a), 2.02 (2H, m, H-16), 1.86 (1H, m, H-22b), 1.86 (1H, m, H-9), 1.84 (1H, m, H-19a), 1.57 (1H, m, H-6a), 1.56 (1H, m, H-7a), 1.49 (1H, m, H-21a), 1.45 (1H, m, H-6b), 1.36 (1H, m, H-7b), 1.34 (2H, m, H-1b, H-19b), 1.30 (3H, s, Me-23), 1.29 (3H, s, Me-27), 1.23 (2H, q, $J=3.3$ Hz, H₂-15), 1.21 (1H, d, $J=3.5$ Hz, H-21b), 1.10 (3H, s, Me-24), 1.06 (1H, m, H-5), 1.05 (3H, s, Me-30), 1.02 (3H, s, Me-25), 1.01 (3H, s, Me-26), 0.96 (3H, s, Me-29); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 180.6 (C-28), 145.3 (C-13), 122.9 (C-12), 84.2 (C-3), 69.0 (C-2), 56.3 (C-5), 48.6 (C-9), 48.2 (C-1), 47.1 (C-17), 46.8 (C-19), 42.6 (C-14), 42.4 (C-18), 40.3 (C-4), 40.2 (C-8), 38.9 (C-10), 34.6 (C-21), 33.7 (C-29), 33.6 (C-7), 33.6 (C-22), 31.4 (C-20), 29.7 (C-23), 28.7 (C-15), 26.6 (C-27), 24.3 (C-16), 24.2 (C-30), 24.1 (C-11), 19.3 (C-6), 18.1 (C-24), 17.9 (C-26), 17.3 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **1** 为山楂酸。

化合物 **2**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 473.4 $[M+H]^+$, 推测该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$, 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 5.48 (1H, t, $J=3.7$ Hz, H-12), 4.19 (1H, m, H-3), 4.17 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-23a), 3.70 (1H, d, $J=10.4$ Hz, H-23b), 3.28 (1H, dd, $J=14.0, 4.6$ Hz, H-18), 2.15 (1H, m, H-15a), 2.07 (1H, m, H-16a), 2.00 (1H, m, H-22a), 1.96 (1H, m, H-16b), 1.92 (1H, m, H-11a), 1.86 (1H, m, H-2a), 1.78 (1H, m, H-19a), 1.77 (1H, m, H-22b), 1.76 (1H, m, H-9), 1.66 (1H, m, H-6a), 1.60 (1H, m, H-7a), 1.54 (1H, m, H-1a), 1.52 (1H, m, H-5), 1.43 (1H, m, H-6b), 1.41 (1H, m, H-21a), 1.27 (1H, m, H-19b), 1.26 (1H, m, H-7b), 1.22 (3H, s, Me-27), 1.18 (1H, m, H-21b), 1.14 (1H, m, H-15b), 1.08 (1H, dt, $J=7.6, 3.8$ Hz, H-1b), 1.04 (3H, s, Me-24), 1.03 (3H, s, Me-26), 0.98 (3H, s, Me-30), 0.95 (3H, s, Me-25), 0.91 (3H, s, Me-29), 0.98 (3H, s, Me-30); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 180.5 (C-28), 145.2

(C-13), 123.0 (C-12), 73.7 (C-3), 68.2 (C-23), 49.0 (C-5), 48.5 (C-9), 47.0 (C-17), 46.8 (C-19), 43.3 (C-4), 42.6 (C-14), 42.4 (C-18), 40.1 (C-8), 39.2 (C-1), 37.6 (C-10), 34.6 (C-21), 33.6 (C-22), 33.6 (C-29), 33.4 (C-7), 31.3 (C-20), 28.7 (C-15), 28.1 (C-2), 26.5 (C-27), 24.2 (C-30), 24.1 (C-11), 24.1 (C-16), 19.0 (C-6), 17.9 (C-26), 16.4 (C-25), 13.5 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[6-7], 故鉴定化合物 **2** 为常春藤皂苷元。

化合物 **3**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 455.8 $[M-H]^-$, 推测该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.24 (1H, t, $J = 3.8$ Hz, H-12), 3.15 (1H, dd, $J = 11.6, 4.6$ Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, $J = 4.6, 13.7$ Hz, H-18), 2.01 (1H, td, $J = 13.4, 4.0$ Hz, H-16a), 1.16 (3H, s, Me-27), 0.97 (3H, s, Me-23), 0.94 (3H, s, Me-25), 0.94 (3H, s, Me-30), 0.91 (3H, s, Me-29), 0.82 (3H, s, Me-26), 0.78 (3H, s, Me-24), 0.75 (1H, m, H-5); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 182.1 (C-28), 145.3 (C-13), 123.6 (C-12), 79.7 (C-3), 56.8 (C-5), 49.8 (C-29), 47.7 (C-17), 47.3 (C-19), 42.9 (C-14), 42.8 (C-18), 40.6 (C-8), 39.8 (C-1), 39.8 (C-4), 38.2 (C-10), 34.9 (C-21), 34.0 (C-22), 33.9 (C-7), 33.6 (C-29), 31.6 (C-20), 28.8 (C-15), 28.7 (C-23), 27.9 (C-2), 26.4 (C-27), 24.5 (C-11), 24.1 (C-16), 24.0 (C-30), 19.5 (C-6), 17.7 (C-26), 16.3 (C-24), 15.9 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **3** 为齐墩果酸。

化合物 **4**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 471.4 $[M-H]^-$, 推测该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.04 (1H, dd, $J = 10.4, 1.7$ Hz, H-12), 5.35 (1H, dd, $J = 10.3, 3.2$ Hz, H-11), 3.06 (1H, dd, $J = 11.6, 4.8$ Hz, H-3), 2.17 (1H, td, $J = 13.3, 5.8$ Hz, H-16a), 2.02 (1H, dd, $J = 13.8, 3.4$ Hz, H-18), 1.02 (3H, s, Me-27), 0.95 (3H, s, Me-26), 0.89 (3H, s, Me-23), 0.88 (3H, s, Me-29), 0.84 (3H, s, Me-30), 0.81 (3H, s, Me-25), 0.69 (3H, s, Me-24); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 182.7 (C-28), 137.4 (C-11), 127.8 (C-12), 92.1 (C-13), 79.5 (C-3), 56.0 (C-18), 54.5 (C-5), 51.8 (C-9), 45.6 (C-17), 42.9 (C-14), 42.6 (C-8), 40.0 (C-4), 39.4 (C-1), 38.2 (C-19), 37.5 (C-10), 35.2 (C-22), 33.5 (C-29), 32.3 (C-21), 32.3 (C-7), 28.3 (C-23), 28.3 (C-20), 27.7 (C-15), 26.5 (C-2), 23.9 (C-16), 22.4 (C-30), 19.6 (C-26), 18.8 (C-27), 18.7 (C-6), 18.5 (C-25), 15.7 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为 $3\beta, 13\beta$ -dihydroxyolean-11-en-28-oic acid。

化合物 **5**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 457.3 $[M+H]^+$, 推测该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.56 (1H, s, H-12), 3.46 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-28a), 3.22 (1H, m, H-3), 3.21 (1H, m, H-28b), 2.77 (1H, dt, $J = 13.6, 3.7$ Hz, H-1a), 2.33 (1H, s, H-9), 2.15 (1H, dd, $J = 13.6, 4.6$ Hz, H-18), 1.75 (1H, m, H-15a), 1.75 (1H, m, H-19a), 1.65 (2H, m, H₂-2), 1.38 (3H, s, Me-27), 1.35 (1H, m, H-16a), 1.33 (1H, m, H-21a), 1.18 (1H, m, H-15b), 1.15 (1H, m, H-19b), 1.12 (3H, s, Me-25), 1.10 (3H, s, Me-26), 1.00 (3H, s, Me-26), 0.98 (1H, m, H-1b), 0.91 (3H, s, Me-30), 0.89 (3H, s, Me-29), 0.80 (3H, s, Me-24), 0.69 (1H, dd, $J = 11.7, 1.9$ Hz, H-5); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.3 (C-11), 169.6 (C-13), 128.4 (C-12), 78.9 (C-3), 69.8 (C-28), 61.9 (C-9), 55.1 (C-5), 45.5 (C-8), 45.0 (C-19), 43.6 (C-14), 42.8 (C-18), 39.3 (C-1), 39.3 (C-4), 37.2 (C-17), 37.1 (C-10), 34.0 (C-21), 33.1 (C-29), 32.8 (C-7), 31.2 (C-20), 30.8 (C-22), 28.2 (C-24), 27.4 (C-2), 26.0 (C-15), 23.5 (C-27), 23.5 (C-30), 21.6 (C-16), 18.7 (C-26), 17.6 (C-6), 16.5 (C-25), 15.7 (C-23)。以上波谱数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为 11-oxoerythriol。

化合物 **6**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 469.4 $[M-H]^-$, 推测该化合物分子式为 $C_{30}H_{46}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.63 (1H, s, H-12), 3.22 (1H, dd, $J = 10.9, 5.3$ Hz, H-3), 2.96 (1H, dd, $J = 14.0, 4.7$ Hz, H-18), 1.09 (3H, s, Me-23), 0.98 (3H, s, Me-30), 0.94 (3H, s, Me-29), 0.93 (3H, s, Me-26), 0.90 (3H, s, Me-25), 0.77 (3H, s, Me-24); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.5 (C-11), 182.9 (C-28), 168.5 (C-13), 128.1 (C-12), 78.8 (C-3), 61.8 (C-9), 55.0 (C-5), 46.0 (C-17), 45.0 (C-14), 44.1 (C-19), 43.4 (C-8), 41.3 (C-18), 39.1 (C-4), 39.1 (C-1), 37.3 (C-10), 33.6 (C-21), 32.9 (C-29), 32.8 (C-7), 31.6 (C-22), 30.7 (C-2), 28.1 (C-23), 27.8 (C-15), 27.2 (C-2), 23.6 (C-27), 23.4 (C-30), 22.6 (C-16), 19.3 (C-26), 17.3 (C-6), 16.3 (C-25), 15.6 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为 3β -hydroxy-11-oxo-olean-12-en-28-oic acid。

化合物 **7**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 471.4 $[M-H]^-$, 推测该化合物分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.29 (1H, s, H-12), 3.17 (1H, m, H-3), 2.51 (1H, s, H-18), 2.50 (1H, m, H-2a), 2.07~1.91 (2H, m, H-11), 1.93~1.79 (1H, m, H-9), 1.79~1.70

(3H, m, H-15a, 21a, 22a), 1.70~1.62 (2H, m, H-2b, 6), 1.61~1.50 (5H, m, H-1a, 1b, 16, 21b), 1.47~1.30 (2H, m, H-1b, 7b), 1.34 (3H, s, Me-27), 0.99 (3H, s, Me-23), 0.95 (3H, s, Me-25), 0.94 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, Me-30), 0.90 (1H, m, H-5), 0.81 (3H, s, Me-24), 0.79 (3H, s, Me-26); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 140.1 (C-13), 129.4 (C-12), 79.8 (C-3), 73.6 (C-19), 56.8 (C-5), 55.1 (C-18), 43.1 (C-20), 42.6 (C-14), 41.1 (C-8), 39.9 (C-4), 39.8 (C-10), 39.1 (C-22), 34.2 (C-7), 29.6 (C-15), 28.7 (C-23), 27.9 (C-21), 27.3 (C-16), 27.1 (C-29), 26.7 (C-2), 24.8 (C-27), 24.7 (C-11), 19.6 (C-1), 17.5 (C-24), 16.6 (C-26), 16.3 (C-30), 15.9 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **7** 为 pomolic acid。

化合物 **8**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 463.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 推测该化合物分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 9.39 (1H, s, H-28), 5.34 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 3.20 (1H, dd, $J = 11.4, 4.4$ Hz, H-3), 2.62 (1H, m, H-18), 1.97 (1H, m, H-11a), 1.88 (1H, m, H-11b), 1.13 (3H, s, Me-27), 0.98 (3H, s, Me-23), 0.91 (3H, s, Me-29), 0.91 (3H, s, Me-24), 0.90 (3H, s, Me-30), 0.77 (3H, s, Me-25), 0.73 (3H, s, Me-26); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 207.7 (C-28), 143.1 (C-13), 123.4 (C-12), 79.1 (C-3), 55.3 (C-5), 49.2 (C-9), 47.7 (C-17), 45.7 (C-19), 41.8 (C-14), 40.5 (C-18), 39.7 (C-8), 38.9 (C-4), 38.6 (C-1), 37.1 (C-10), 33.3 (C-21), 33.2 (C-7), 32.9 (C-22), 30.8 (C-29), 28.2 (C-20), 27.9 (C-2), 27.3 (C-23), 26.9 (C-15), 25.7 (C-27), 23.6 (C-16), 23.6 (C-30), 22.2 (C-11), 18.4 (C-6), 17.2 (C-26), 15.7 (C-24), 15.5 (C-15)。以上波谱数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **8** 为 3 β -hydroxyolean-12-en-28-aldehyde。

化合物 **9**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 441.6 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 推测该化合物分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.58 (1H, s, H-12), 3.23 (1H, dd, $J = 11.1, 5.3$ Hz, H-3), 2.79 (1H, dt, $J = 13.5, 3.6$ Hz, H-9), 1.36 (3H, s, Me-27), 1.13 (3H, s, Me-24), 1.13 (3H, s, Me-23), 1.00 (3H, s, Me-26), 0.90 (3H, s, Me-29), 0.88 (3H, s, Me-30), 0.86 (3H, s, Me-25), 0.80 (3H, s, Me-28); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 200.5 (C-11), 170.8 (C-13), 128.3 (C-12), 78.9 (C-3), 61.9 (C-9), 55.1 (C-5), 47.7 (C-18), 45.6 (C-14), 45.3 (C-19), 43.5 (C-8), 39.3 (C-1), 37.2 (C-4), 36.7 (C-22), 34.6 (C-21),

33.2 (C-29), 32.9 (C-7), 32.5 (C-17), 31.2 (C-6), 28.9 (C-28), 28.2 (C-23), 27.5 (C-2), 26.6 (C-16), 26.5 (C-15), 23.6 (C-30), 23.6 (C-27), 18.9 (C-6), 17.6 (C-26), 16.5 (C-24), 15.7 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为 3 β -hydroxyolean-12-en-11-one。

化合物 **10**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 477.8 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 推测该化合物分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.29 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 2.83 (1H, dd, $J = 13.8, 4.7$ Hz, H-18), 2.54 (1H, ddd, $J = 15.8, 11.1, 7.3$ Hz, H-2a), 2.36 (1H, ddd, $J = 15.9, 6.8, 3.6$ Hz, H-2b), 1.14 (3H, s, Me-27), 1.08 (3H, s, Me-23), 1.04 (3H, s, Me-24), 1.02 (3H, s, Me-25), 0.92 (3H, s, Me-29), 0.90 (3H, s, Me-30), 0.80 (3H, s, Me-26); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 217.9 (C-3), 184.4 (C-28), 143.8 (C-13), 122.5 (C-12), 55.4 (C-5), 47.6 (C-4), 47.0 (C-9), 46.7 (C-17), 45.9 (C-19), 41.8 (C-14), 41.1 (C-18), 39.4 (C-1), 39.2 (C-8), 36.9 (C-10), 34.3 (C-2), 33.9 (C-21), 33.2 (C-29), 32.5 (C-22), 32.3 (C-7), 30.8 (C-20), 27.8 (C-15), 26.6 (C-24), 26.0 (C-27), 23.7 (C-30), 23.6 (C-11), 23.0 (C-16), 21.6 (C-23), 19.7 (C-6), 17.1 (C-26), 15.1 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为 3-羧基齐墩果酸。

化合物 **11**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 465.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 推测该化合物分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.19 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 3.55 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-28a), 3.22 (1H, m, H-3), 3.21 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-28b), 1.98 (1H, dd, $J = 13.5, 4.7$ Hz, H-18), 1.92~1.83 (3H, m, H₂-11, 16 α), 1.75~1.68 (2H, m, H-19 α , 15 β), 1.17 (3H, s, Me-27), 1.00 (3H, s, Me-23), 0.94 (3H, s, Me-26), 0.93 (3H, s, Me-25), 0.89 (3H, s, Me-29), 0.87 (3H, s, Me-30), 0.79 (3H, s, Me-24); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 144.3 (C-13), 122.5 (C-12), 79.2 (C-3), 69.9 (C-28), 55.3 (C-5), 47.7 (C-9), 46.6 (C-19), 42.5 (C-18), 41.9 (C-14), 39.9 (C-8), 38.9 (C-4), 38.7 (C-1), 37.1 (C-10), 37.1 (C-17), 34.2 (C-21), 33.3 (C-29), 32.7 (C-7), 31.2 (C-22), 31.1 (C-20), 28.2 (C-23), 27.4 (C-2), 26.1 (C-27), 25.7 (C-15), 23.73 (C-30), 23.67 (C-11), 22.1 (C-16), 18.5 (C-6), 16.9 (C-26), 15.7 (C-24), 15.7 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **11** 为古柯二醇。

化合物 **12**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 535.4 $[\text{M} +$

Na]⁺, 推测该化合物分子式为 C₃₃H₅₂O₄。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 5.29 (1H, t, *J* = 3.7 Hz, H-12), 4.59 (1H, d, *J* = 16.8 Hz, H-1'a), 4.54 (1H, d, *J* = 16.7, H-1'b), 3.21 (1H, dd, *J* = 11.3, 4.3 Hz, H-3), 2.87 (1H, dd, *J* = 13.8, 4.7 Hz, H-18), 2.16 (3H, s, 3'-Me), 1.14 (3H, s, 27-Me), 0.99 (3H, s, 23-Me), 0.93 (3H, s, 29-Me), 0.91 (3H, s, Me-24), 0.90 (3H, s, Me-30), 0.78 (3H, s, Me-25), 0.72 (3H, s, Me-26); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 202.5 (C-2'), 177.2 (C-28), 143.7 (C-13), 122.7 (C-12), 79.2 (C-3), 68.2 (C-1'), 55.4 (C-5), 47.8 (C-9), 47.0 (C-17), 46.1 (C-19), 41.9 (C-14), 41.4 (C-18), 39.5 (C-8), 38.9 (C-4), 38.6 (C-1), 37.2 (C-10), 34.0 (C-21), 33.2 (C-30), 32.8 (C-22), 32.5 (C-7), 30.8 (C-20), 28.2 (C-23), 27.8 (C-15), 27.3 (C-2), 26.5 (C-3'), 26.0 (C-27), 23.8 (C-29), 23.6 (C-16), 23.3 (C-11), 18.5 (C-6), 17.1 (C-26), 15.7 (C-25), 15.5 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **12** 为 oleanolic acid 2-oxopropyl ester。

化合物 **13**: 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 457.4 [M+H]⁺, 推测该化合物分子式为 C₃₀H₄₈O₃。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 5.23 (1H, t, *J* = 3.7 Hz, H-12), 3.15 (1H, dd, *J* = 11.7, 4.6 Hz, H-3), 2.20 (1H, dd, *J* = 11.4, 1.8 Hz, H-18), 1.12 (3H, s, Me-23), 0.98 (3H, s, Me-27), 0.96 (3H, d, *J* = 5.0 Hz, Me-29), 0.96 (3H, s, Me-26), 0.89 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, Me-30), 0.85 (3H, s, Me-24), 0.78 (3H, s, Me-25); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 181.7 (C-28), 139.6 (C-13), 126.9 (C-12), 79.7 (C-3), 56.7 (C-5), 54.4 (C-18), 49.0 (C-9), 43.2 (C-14), 40.8 (C-8), 40.4 (C-19), 40.0 (C-1), 39.8 (C-4), 38.1 (C-10), 38.1 (C-22), 34.3 (C-7), 31.8 (C-21), 29.2 (C-15), 28.8 (C-23), 27.9 (C-2), 25.3 (C-16), 24.4 (C-11), 24.1 (C-27), 21.6 (C-30), 19.5 (C-6), 17.8 (C-29), 17.7 (C-26), 16.4 (C-24), 16.0 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[18-19], 故鉴定化合物 **13** 为熊果酸。

化合物 **14**: 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 457.3 [M+H]⁺, 推测该化合物分子式为 C₃₀H₄₈O₃。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 5.51 (1H, s, H-12), 3.46 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-28a), 3.22 (1H, dd, *J* = 11.4, 4.9 Hz, H-3), 3.16 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, H-28b), 2.32 (1H, s, H-9), 1.32 (3H, s, Me-27), 1.16 (3H, s, Me-23), 1.15 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, Me-30), 0.96 (3H, s, Me-24), 0.82 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, Me-29), 0.81 (3H, s, Me-25); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 199.8 (C-11), 163.8 (C-13), 130.7

(C-12), 78.9 (C-3), 69.9 (C-28), 61.7 (C-9), 55.0 (C-5), 54.1 (C-18), 45.2 (C-8), 43.8 (C-14), 39.4 (C-20), 39.4 (C-1), 39.3 (C-4), 39.1 (C-19), 38.5 (C-17), 37.1 (C-10), 35.0 (C-22), 32.9 (C-7), 30.4 (C-21), 28.2 (C-23), 27.4 (C-2), 26.7 (C-15), 22.8 (C-16), 21.3 (C-30), 20.7 (C-27), 18.5 (C-26), 17.7 (C-6), 17.5 (C-29), 16.7 (C-25), 15.7 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[20-21], 故鉴定化合物 **14** 为 ilelatifol A。

化合物 **15**: 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 505.4 [M+Cl]⁻, 推测该化合物分子式为 C₃₀H₄₆O₄。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 5.56 (1H, s, H-12), 1.31 (3H, s, Me-27), 1.12 (3H, s, Me-25), 0.99 (3H, s, Me-24), 0.97 (3H, s, Me-20), 0.97 (3H, d, *J* = 6.2, Hz, Me-30), 0.87 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, Me-29), 0.79 (3H, s, Me-5); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 200.5 (C-11), 179.7 (C-28), 163.7 (C-13), 130.6 (C-12), 78.7 (C-3), 61.5 (C-9), 55.0 (C-5), 52.9 (C-18), 47.4 (C-17), 44.7 (C-8), 43.9 (C-14), 39.2 (C-1), 39.1 (C-4), 38.7 (C-20), 38.6 (C-19), 37.2 (C-10), 36.1 (C-22), 33.1 (C-7), 30.4 (C-21), 28.5 (C-15), 28.1 (C-23), 27.1 (C-2), 23.9 (C-16), 21.0 (C-27), 21.0 (C-30), 18.9 (C-26), 17.5 (C-6), 17.1 (C-29), 16.3 (C-25), 15.6 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[22-23], 故鉴定化合物 **15** 为 3β-hydroxy-11-oxours-12-en-28-oic acid。

化合物 **16**: 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 473.8 [M+H]⁺, 推测该化合物分子式为 C₃₀H₄₈O₄。¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ: 5.46 (1H, t, H-12), 4.08 (1H, m, H-2), 3.39 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3), 2.62 (1H, d, *J* = 11.5 Hz, H-18), 1.25 (3H, s, Me-23), 1.18 (3H, s, Me-27), 1.06 (3H, s, Me-26), 1.05 (3H, s, Me-24), 0.98 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, Me-30), 0.97 (3H, s, Me-25), 0.93 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, Me-29); ¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) δ: 180.3 (C-28), 139.7 (C-13), 125.9 (C-12), 84.2 (C-3), 68.9 (C-2), 56.3 (C-5), 53.9 (C-18), 48.4 (C-1), 48.4 (C-17), 48.4 (C-9), 42.9 (C-14), 40.4 (C-4), 40.2 (C-8), 39.8 (C-19), 39.8 (C-20), 38.8 (C-10), 37.8 (C-22), 33.9 (C-7), 31.4 (C-16), 29.7 (C-21), 29.0 (C-23), 25.3 (C-15), 24.3 (C-27), 24.1 (C-11), 21.8 (C-29), 19.2 (C-6), 18.1 (C-24), 17.9 (C-30), 17.8 (C-26), 17.3 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **16** 为 2α,3β-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid。

化合物 **17**: 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 441.4 [M+H]⁺, 推测该化合物分子式为 C₃₀H₄₈O₂。¹H-NMR

(600 MHz, CDCl_3) δ : 5.54 (1H, s, H-12), 3.23 (1H, dd, $J = 11.4, 5.0$ Hz, H-3), 2.32 (1H, s, H-9), 1.67 (1H, m, H-18), 1.29 (3H, s, Me-27), 1.17 (3H, s, Me-26), 1.00 (3H, s, Me-25), 0.94 (3H, s, Me-24), 0.81 (3H, s, Me-23), 0.81 (3H, d, $J = 3.9$ Hz, Me-30), 0.80 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-29); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 200.0 (C-1), 165.1 (C-13), 130.6 (C-12), 79.0 (C-3), 61.7 (C-9), 59.1 (C-18), 55.1 (C-5), 45.3 (C-14), 43.8 (C-8), 41.1 (C-22), 39.4 (C-20), 39.4 (C-1), 39.4 (C-19), 39.3 (C-4), 37.1 (C-10), 34.1 (C-17), 33.0 (C-7), 31.0 (C-21), 29.0 (C-28), 28.2 (C-23), 27.7 (C-16), 27.5 (C-2), 27.4 (C-15), 21.3 (C-30), 20.7 (C-27), 18.7 (C-26), 17.7 (C-6), 17.6 (C-29), 16.7 (C-25), 15.7 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 **17** 为 3 β -hydroxy-11-oxo-ursan-12-ene。

化合物 **18**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 513.8 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 推测该化合物分子式为 $\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_4$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.26 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-12), 4.54 (2H, m, H₂-1'), 3.22 (1H, dd, $J = 11.4, 4.7$ Hz, H-3), 2.15 (3H, s, Me-3'), 1.09 (3H, s, Me-27), 0.99 (3H, s, Me-23), 0.95 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, Me-30), 0.92 (3H, s, Me-25), 0.86 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, Me-29), 0.78 (3H, s, Me-24), 0.74 (3H, s, Me-26); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 202.6 (C-2'), 177.0 (C-28), 138.1 (C-13), 125.9 (C-12), 79.2 (C-3), 68.2 (C-1'), 55.4 (C-5), 53.0 (C-18), 48.4 (C-17), 47.7 (C-9), 42.2 (C-14), 39.7 (C-8), 39.2 (C-19), 39.0 (C-20), 38.9 (C-1), 38.8 (C-4), 37.1 (C-10), 36.8 (C-22), 33.1 (C-7), 30.8 (C-21), 28.3 (C-23), 28.1 (C-15), 27.4 (C-2), 26.5 (C-3'), 24.4 (C-16), 23.7 (C-27), 23.4 (C-11), 21.3 (C-30), 18.4 (C-6), 17.2 (C-29), 15.8 (C-24), 15.6 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[26], 故鉴定化合物 **18** 为 2-oxopropyl(3 β)-3-hydroxyurs-12-en-28-oate。

化合物 **19**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 441.7 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 推测该化合物分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 9.32 (1H, s, H-28), 5.31 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 3.21 (1H, dd, $J = 11.3, 4.7$ Hz, H-3), 1.09 (3H, s, Me-27), 0.99 (3H, s, Me-23), 0.96 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, Me-30), 0.92 (3H, s, Me-24), 0.88 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, Me-29), 0.78 (3H, s, Me-25), 0.77 (3H, s, Me-26); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 207.6 (C-28), 137.9 (C-13), 126.3 (C-12), 79.1 (C-3), 55.3 (C-5), 52.7 (C-18), 50.3 (C-17), 47.7 (C-9), 42.3 (C-14), 39.9 (C-

8), 39.1 (C-19), 38.9 (C-20), 38.9 (C-4), 38.8 (C-1), 37.0 (C-10), 33.2 (C-22), 32.0 (C-7), 30.3 (C-21), 28.3 (C-15), 27.3 (C-2), 27.0 (C-23), 23.4 (C-16), 23.3 (C-11), 23.3 (C-27), 21.2 (C-30), 18.4 (C-6), 17.3 (C-26), 16.8 (C-29), 15.8 (C-24), 15.6 (C-25)。以上波谱数据与文献报道一致^[27], 故鉴定化合物 **19** 为熊果醛。

化合物 **20**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 507.2 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$, 推测该化合物分子式为 $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 4.53 (1H, s, 12-OH), 4.25 (1H, d, $J = 10.3$ Hz, H-11), 3.24 (1H, q, $J = 8.1, 5.6$ Hz, H-3), 3.17 (3H, s, 11-OMe), 2.23 (1H, m, H-18), 1.87 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-9), 1.79 (1H, td, $J = 13.5, 5.0$ Hz, H-15a), 1.20 (3H, s, Me-27), 1.11 (3H, s, Me-25), 1.11 (3H, s, Me-26), 1.02 (3H, s, Me-23), 0.93 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, Me-30), 0.92 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, Me-29), 0.82 (3H, s, Me-24), 0.81 (3H, s, Me-28); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 142.2 (C-12), 118.4 (C-13), 78.8 (C-3), 76.8 (C-11), 55.6 (C-5), 51.5 (11-OMe), 47.8 (C-18), 46.4 (C-9), 43.0 (C-14), 41.8 (C-22), 40.9 (C-19), 40.7 (C-8), 39.6 (C-20), 39.3 (C-4), 39.1 (C-1), 38.5 (C-10), 34.4 (C-7), 33.5 (C-17), 31.4 (C-21), 28.7 (C-28), 28.5 (C-23), 27.7 (C-16), 27.6 (C-2), 27.3 (C-15), 24.0 (C-27), 21.4 (C-30), 18.4 (C-6), 18.2 (C-26), 17.1 (C-29), 16.3 (C-25), 15.9 (C-24)。以上波谱数据与文献报道一致^[28], 故鉴定化合物 **20** 为 11 α -methoxyurs-12-ene-3 β ,12-diol。

4 活性测试

采用 Omar 等^[29]的方法测试化合物 **1**~**20** 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。测试化合物在 100 $\mu\text{mol/L}$ 时对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制率, 对抑制率 $>50\%$ 的化合物进行半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}) 值测定。其中化合物 **1**、**3**、**4**、**13**、**15** 和 **16** 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率 $>50\%$ 。化合物 **1**、**3**、**4**、**13**、**15** 和 **16** 测试 IC_{50} 值: 用倍比稀释法设置浓度范围为 100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.56 $\mu\text{mol/L}$, 通过 SPSS 18.0 软件中的 probit 回归法计算得到 IC_{50} 值分别为 (15.75 $\pm$ 0.40)、(34.18 $\pm$ 2.26)、(20.55 $\pm$ 1.35)、(24.76 $\pm$ 0.21)、(34.74 $\pm$ 0.54)、(35.60 $\pm$ 1.66) $\mu\text{mol/L}$, 抑制活性均高于阳性对照阿卡波糖 [IC_{50} 为 (536.9 $\pm$ 24.0) $\mu\text{mol/L}$]。其中, 化合物 **1**、**3**、**4** 为齐墩果烷型三萜, 化合物 **13**、**15**、**16** 为乌苏烷型三萜, 化合物 **1** 的 IC_{50} 值最小, 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性最为显著。可以看出,

在同个骨架中, 化合物 **1** 相比其他 2 个化合物, 其 C-2 上多连了 1 个 α -羟基, 而化合物 **4** 的羟基在 C-13 上, 说明 2 位上的羟基也许由于化学位阻相较于 13 位羟基的更小, 所以能够与 α -葡萄糖苷酶的结合更为紧密, 从而更好地抑制起发挥作用。同时, 20 位的偕二甲基对于抑制活性也有发挥一定作用的可能性。

5 讨论

本课题对芫花枝叶部分的三萜类化学成分及 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行了研究, 从芫花干燥枝叶的 95%乙醇提取物的醋酸乙酯部位中分离鉴定了 20 个三萜类化合物。芫花的天然产物中, 有从花蕾中分离得到的具有抗肿瘤活性显著的瑞香烷型二萜, 也有从根部分离得到的具有神经保护活性的愈创木烷型倍半萜, 而鲜少对其枝叶进行系统的化学成分研究。本课题则对芫花的枝叶部分进行了系统的三萜类成分的分离鉴定, 并得到了具有抑制 α -葡萄糖苷酶的活性化合物。但本研究仍不够深入, 后续应进一步分离得到更多此结构类型的成分以及活性化合物, 即可进一步探讨其构效关系; 同时也可能挖掘到结构新颖的化合物从而扩大天然产物库, 后期将对其他极性部位和药理作用展开进一步研究, 以便为芫花的综合利用提供科研数据和理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Gupta D P, Park S H, Lee Y S, *et al.* *Daphne genkwa* flower extract promotes the neuroprotective effects of microglia [J]. *Phytomedicine*, 2023, 108: 154486.
- [2] Wu J, Qiu Z Z, Wei P H, *et al.* Study on the mechanism of potential pharmacological action of *Daphne genkwa* of anti-tumor based on data mining, network pharmacology and molecular docking [J]. *J Phys: Conf Ser*, 2021, 2004(1): 012010.
- [3] 宗明月, 张庆然, 王璐琼, 等. 基于网络药理学和分子对接法研究芫花抗炎作用机制 [J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版, 2021, 34(2): 178-185.
- [4] 宗明月. 芫花根中倍半萜类成分的抗炎活性及机制研究 [D]. 烟台: 烟台大学, 2021.
- [5] Lia Z J, Wan C P, Cai L, *et al.* Terpenoids with cytotoxic activity from the branches and leaves of *Pyrus pashia* [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 13: 246-251.
- [6] Joshi B S, Singh K L, Roy R. Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR spectra of the pentacyclic triterpene hederagenin from *Nigella sativa* Linn [J]. *Magn Reson Chem*, 1999, 37(4): 295-298.
- [7] Mizui F M, Kasai R, Ohtani K, *et al.* Saponins from brans of quinoa, *Chenopodium quinoa* Willd. I [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(4): 1415-1418.
- [8] Kishikawa A, Amen Y, Shimizu K. Anti-allergic triterpenes isolated from olive milled waste [J]. *Cytotechnology*, 2017, 69(2): 307-315.
- [9] Misra L, Laatsch H. Triterpenoids, essential oil and photo-oxidative 28: > 13-lactonization of oleanolic acid from *Lantana camara* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54(8): 969-974.
- [10] Kim D K, Nam I Y, Kim J W, *et al.* Pentacyclic triterpenoids from *Ilex macropoda* [J]. *Arch Pharm Res*, 2002, 25(5): 617-620.
- [11] Zhang Q, Lu Z, Li X, *et al.* Triterpenoids and steroids from the leaves of *Forsythia suspensa* [J]. *Chem Nat Compd*, 2015, 51(1): 178-180.
- [12] Thao T T P, Chi N L, Luu N T, *et al.* Phytochemistry and anti-inflammatory activity of iridoids from *Dolichandrone spathacea* collected in the mangrove forest of Phu Loc district, Thua Thien Hue Province, Vietnam [J]. *Vietnam J Chem*, 2021, 59(6): 943-950.
- [13] Monaco P, Caputo R, Palumbo G, *et al.* Triterpenes from the galls of *Pistacia lentiscus* [J]. *Phytochemistry*, 1973, 12(10): 2533-2534.
- [14] Herath H, Athukoralage P. Oleanane triterpenoids from *Gordonia ceylanica* [J]. *Nat Prod Sci*, 1998, 4: 253-256.
- [15] Kwon H C, Lee K R, Zee O P. Cytotoxic constituents of *Pilea mongolica* [J]. *Arch Pharmacol Res*, 1997, 20(2): 180-183.
- [16] Lee C K, Chang M H. The chemical constituents from the heartwood of *Eucalyptus citriodora* [J]. *J Chin Chem Soc*, 2000, 47(3): 555-560.
- [17] Cao F, Gao Y H, Wang M, *et al.* Propylene glycol-linked amino acid/dipeptide diester prodrugs of oleanolic acid for PepT1-mediated transport: Synthesis, intestinal permeability, and pharmacokinetics [J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(4): 1378-1387.
- [18] Liu M C, Hu D Y, Song B A, *et al.* Chemical constituents from *Uncaria sinensis* (Oliv.) Havil [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2011, 23(6): 1058-1060.
- [19] Liu M C, Yang S J, Jin L H, *et al.* Chemical constituents of the ethyl acetate extract of *Belamcanda chinensis* (L.) DC roots and their antitumor activities [J]. *Molecules*, 2012, 17(5): 6156-6169.
- [20] Nishimura K, Miyase T, Noguchi H, *et al.* Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase (ACAT) inhibitors from *Ilex* spp. [J]. *Natural Medicines*, 2000, 54(6): 297-305.
- [21] Ali M S, Ibrahim S A, Jalil S, *et al.* Ursolic acid: A potent

- inhibitor of superoxides produced in the cellular system [J]. *Phytother Res*, 2007, 21(6): 558-561.
- [22] Niesen A, Barthel A, Kluge R, *et al.* Antitumoractive endoperoxides from triterpenes [J]. *Arch Pharm*, 2009, 342(10): 569-576.
- [23] Seebacher W, Simic N, Weis R, *et al.* Complete assignments of ^1H and ^{13}C NMR resonances of oleanolic acid, 18 α -oleanolic acid, ursolic acid and their 11-oxo derivatives [J]. *Magn Reson Chem*, 2003, 41(8): 636-638.
- [24] 莫小宇, 麦景标. 生藤乙酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 中国药房, 2013, 24(15): 1409-1410.
- [25] 黄火强, 闫美娜, 朴香兰, 等. 三角叶凤毛菊中的三萜化合物 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 50-53.
- [26] Ding Q, Wang X H. Modulators of ROR-gamma receptors, composition and use thereof: US20170298090 [P]. 2017-10-19.
- [27] Kim D H, Han K M, Chung I S, *et al.* Triterpenoids from the flower of *Campsis grandiflora* K. Schum. as human acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase inhibitors [J]. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(5): 550-556.
- [28] Kawetripob W, Mahidol C, Prawat H, *et al.* Lupane, friedelane, oleanane, and ursane triterpenes from the stem of *Siphonodon celastrineus* Griff [J]. *Phytochemistry*, 2013, 96: 404-417.
- [29] Omar R, Li L, Yuan T, *et al.* α -Glucosidase inhibitory hydrolyzable tannins from *Eugenia jambolana* seeds [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(8): 1505-1509.

[责任编辑 王文倩]