柠檬清风藤茎中 2 个新的苯并环丁烯苷类化合物

黄　艳[1]，陈　铭[1]，方雪湾[1]，陈明生[1]，谭小青[1]，何超文[3]，李　俊[2, 3]

1. 广西中药质量标准研究重点实验室，广西壮族自治区中医药研究院，广西 南宁　530022
2. 省部共建药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室，广西师范大学化学与药学学院，广西 桂林　541004
3. 广西永福罗汉果科技小院/桂林实力科技有限公司，广西 桂林　541805

摘　要：目的　研究柠檬清风藤 *Sabia limoniacea* 茎的化学成分及其抗炎活性。**方法**　采用硅胶、ODS、Sephadex LH-20 及半制备高效液相色谱等方法对柠檬清风藤茎的化学成分进行分离纯化，并结合 MS、NMR 和电子圆二色谱（ECD）等方法鉴定化合物结构。以脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）诱导的小鼠 RAW264.7 巨噬细胞为炎症模型，通过检测细胞培养液中一氧化氮（NO）释放量评价分离化合物的抗炎活性。**结果**　从柠檬清风藤茎中共分离鉴定出 13 个化合物，分别为 8*R*-3-羟基-双环[4.2.0]辛-1,3,5-三烯-8-羧酸甲酯-4-*O*-β-*D*-葡萄糖苷（**1**）、8*R*-3-羟基-双环[4.2.0]辛-1,3,5-三烯-8-羧酸甲酯-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷（**2**）、施莱西司他丁 1（**3**）、豆甾-22-烯-3β,6β,9β-三醇（**4**）、豆甾-5-烯-3β,4β,7α,22α-四醇（**5**）、(24Z)-7,24-甘遂二烯-3β,27-二醇（**6**）、大黄素（**7**）、单棕榈酸甘油酯（**8**）、1-亚油酰甘油（**9**）、香草酸（**10**）、原儿茶酸（**11**）、甲基阿魏酸（**12**）和 3,4,5-三甲氧基肉桂酸（**13**）。体外抗炎活性研究表明，化合物 **6** 对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中 NO 生成具有显著的抑制作用，其半数抑制浓度（median inhibition concentration，IC_{50}）值为 29.25 μmol/L，且无明显细胞毒性。**结论**　化合物 **1** 和 **2** 为苯并环丁烯类苷类新化合物，命名为柠檬清风藤苷 A 和柠檬清风藤苷 B。除了化合物 **6**，化合物 **1**～**5**、**7**～**13** 均为首次从清风藤属植物中分离得到。化合物 **6** 表现出一定抗炎活性。研究结果丰富了柠檬清风藤的化学成分，为其药效物质基础研究和进一步开发利用提供了科学依据。

关键词：清风藤属；柠檬清风藤；苯并环丁烯；柠檬清风藤苷 A；柠檬清风藤苷 B；抗炎活性

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2026)22 - 8828 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.22.002

Two new benzocyclobutenoid glycosides from stems of *Sabia limoniacea*

HUANG Yan[1], CHEN Ming[1], FANG Xuewan[1], CHEN Mingsheng[1], TAN Xiaoqing[1], HE Chaowen[3], LI Jun[2, 3]

1. Guangxi Key Laboratory of Tradtitional Chinese Medicine Quality Standards, Guangxi Institute of Chinese Traditional Medical & Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China
2. State Key Laboratory for Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, Collaborative Innovation Center for Guangxi Ethnic Medicine, School of Chemistry and Pharmaceutical Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China
3. Science and Technology Backyard of Momordica grosvenori in Yongfu County, Guangxi/Guilin Shili Science & Technology Co., Ltd., Guilin 541805, China

Abstract: Objective　To investigate the chemical constituents from the stems of *Sabia limoniacea* and evaluate their anti-inflammatory activity. **Methods**　The chemical constituents of *S. limoniacea* stems were systematically isolated and purified by silica gel, ODS, Sephadex LH-20, and semi-preparative HPLC. Their structures were elucidated on the basis of MS, NMR, and ECD data. The anti-inflammatory activity of the isolated compounds was evaluated by measuring their inhibitory effects on nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW264.7 macrophages. **Results**　A total of 13 compounds were isolated from the stems of *S. limoniacea* and elucidated as methyl 8*R*-3-hydroxy-bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene-8-carboxylate-4-*O*-β-*D*-glucoside (**1**), methyl 8*R*-3-hydroxy-bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene-8-carboxylate-3-*O*-β-*D*-glucoside (**2**), schleicherastatin 1 (**3**), stigmast-22-ene-3β,6β,9β-triol (**4**), stigmast-5-ene-3β,4β,7α,22α-tetrol (**5**), (24*Z*)-7,24-tirucalladiene-3β,27-diol (**6**), emodin (**7**), glyceryl

收稿日期：2026-07-07

基金项目：广西自然科学基金资助项目（2025GXNSFAA069381）；广西第一批医学青年后备人才项目

作者简介：黄　艳（1987—），博士，研究员，从事中药化学成分与质量标准研究。E-mail: hy2002-2006@163.com

*通信作者：李　俊（1964—），博士研究生导师，教授，从事天然产物化学成分研究。E-mail: lijun9593@gxnu.edu.cn

monopalmitate (**8**), 1-*O*-(9*Z*,12*Z*-octadecadienoyl)glycerol (**9**), vanillic acid (**10**), protocatechuic acid (**11**), methyl ferulic acid (**12**) and 3,4,5-trimethoxycinnamic acid (**13**). The results of the anti-inflammatory activity experiments *in vitro* showed that compound **6** has marked inhibitory effect on NO in LPS induced RAW264.7 macrophages, with IC_{50} values of 29.25 μmol/L. It exhibited no obvious cytotoxicity. **Conclusion** Compounds **1** and **2** were two new benzocyclobutene glycosides, named limoniosides A and B, respectively. Except for compound **6**, compounds **1–5** and **7–13** were isolated from the genus *Sabia* for the first time.. Compound **6** showed potential anti-inflammatory activity. This study enriches the chemical constituents of *S. limoniacea* and provides a scientific basis for research on its pharmacodynamic material basis and further development and utilization.

Key words: *Sabia* Colebr.; *Sabia limoniacea* Wall. ex Hook. f. & Thomson; benzocyclobutenoid glycosides; limonioside A; limonioside B; anti-inflammatory activity

清风藤属 *Sabia* Colebr. 为清风藤科（Sabiaceae），在全球有 63 种，广泛分布于印度、马来西亚、日本、伊里安岛等地区，在我国有 25 种，大多数可入药，主产于西南部，云南尤盛，西北和东部亦有少数分布。清风藤属植物民间习称“腰痛灵、风藤、叶上果、豆甲欧”，其根、茎、叶均可入药，具有保肝、祛风止痛、抗病毒等功效，临床运用中常用于治疗风湿性关节炎和病毒性肝炎等疾病；现代研究表明清风藤属植物主要含三萜类、生物碱类、黄酮类等成分，具有保肝、抗病毒、抗炎等作用[1-6]。

柠檬清风藤 *Sabia limoniacea* Wall. ex Hook. f. & Thomson 为清风藤属植物，是广西瑶族经典用药，别名黑风藤，为传统瑶药“十八钻”中的黑钻。瑶医认为“钻”类药性攒透强劲、通达经络、透利关节，大部分是行气止痛、消肿散瘀药。柠檬清风藤产于广西、福建、广东、云南等地，具有祛风除湿、止痛散瘀、利湿消肿的功效，用于产后腹痛、肾炎水肿、类风湿关节炎等[7]。本课题组前期对柠檬清风藤醋酸乙酯部位进行化学成分研究，发现其主要含有三萜类、生物碱类以及黄酮类等化合物[8-10]。在此基础上，为进一步研究其化学成分，本实验继续对柠檬清风藤醇提取物进行研究，采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱以及半制备液相色谱技术进行分离，采用波谱学方法与理化性质相结合鉴定出 13 个化合物，分别为 8*R*-3-羟基-双环[4.2.0]辛-1,3,5-三烯-8-羧酸甲酯-4-*O*-β-*D*-葡萄糖苷（methyl 8*R*-3-hydroxy-bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene-8-carboxylate-4-*O*-β-*D*-glucoside，**1**）、8*R*-3-羟基-双环[4.2.0]辛-1,3,5-三烯-8-羧酸甲酯-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷（methyl 8*R*-3-hydroxy-bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene-8-carboxylate-3-*O*-β-*D*-glucoside，**2**），施莱西司他丁 1（schleicherastatin 1，**3**）、豆甾-22-烯-3β,6β,9β-三醇（stigmast-22-ene-3β,6β,9β-triol，**4**）、豆甾-5-烯-3β,4β,7α,22α-四醇（stigmast-5-ene-3β,4β,7α,22α-tetrol，**5**）、(24*Z*)-7,24-甘遂二烯-3β,27-二醇 [(24*Z*)-7,24-tirucalladiene-3β,27-diol，**6**]、大黄素（emodin，**7**）、单棕榈酸甘油酯（glyceryl monopalmitate，**8**）、1-亚油酰甘油 [1-*O*-(9*Z*,12*Z*-octadecadienoyl) glycerol，**9**]、香草酸（vanillic acid，**10**）、原儿茶酸（protocatechuic acid，**11**）、甲基阿魏酸（methyl ferulic acid，**12**）、3,4,5-三甲氧基肉桂酸（3,4,5-trimethoxy-cinnamic acid，**13**），结构见图 1。其中化合物 **1** 和 **2** 为苯并环丁烯类苷类新化合物，命名为柠檬清风藤苷 A 和柠檬清风藤苷 B。除了化合物 **6**，其他化合物均为首次从该属植物中分离得到，所有化合物都是从该植物中分离得到。活性筛选结果显示化合物 **6** 具有一定的抗炎活性。该研究结果可为柠檬清风藤药效物质基础阐明及其进一步开发利用提供实验依据。

1 仪器与材料

1260 型半制备 HPLC（美国 Agilent 公司）；2695 分析型 HPLC（美国 Waters 公司）；Thermo Scientific™ Q Exactive Focus LC-MS（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；DRX-400M、600M NMR（瑞士布鲁克公司）；LC-3000 Semi-preparative HPLC（北京创新通恒科技有限公司）；J-180 圆二色光谱仪（日本 JASCO 公司）；SK8200H 型超声波清洗仪（上海科导超声仪器有限公司）；Jasco P-2000 型旋光计（日本 Jasco 公司）；Multiskan MK3 酶标仪（瑞士 Tecan 公司）、CO_2 培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；倒置显微镜（日本 Olympus 公司）。色谱纯乙腈和甲醇（美国 Fisher Scientific 公司），其余试剂均为 AR 级。磷酸盐缓冲液（PBS）、胎牛血清（FBS）、DMEM 培养基（美国 Gibco 公司）；LPS、Griess 试剂（美国 Sigma-Aldrich 公司）。小鼠单核巨噬细胞白血病 RAW264.7 细胞购于中国科学院上海生科院细胞资源中心。

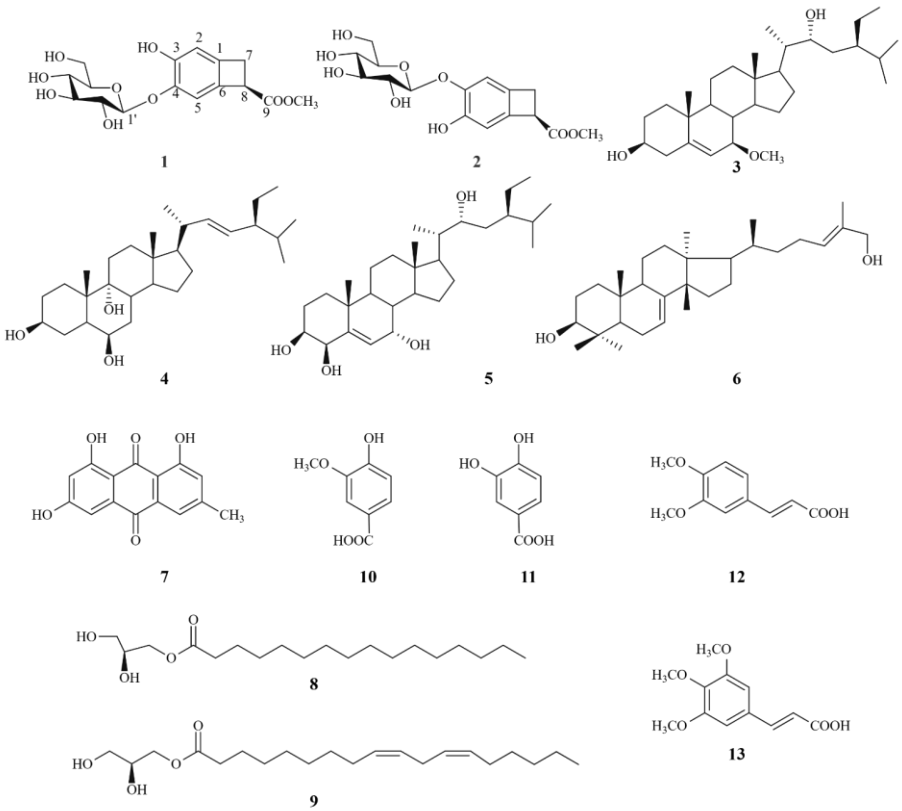


图 1　化合物 1～13 的结构

Fig. 1　Structure of compounds 1—13

柠檬清风藤药材于 2022 年 8 月采自广西金秀，由广西中医药研究院黄云峰主任药师鉴定为清风藤属植物柠檬清风藤 *S. limoniacea* Wall. ex Hook. f. & Thomson 的干燥茎，植物标本（ZFC202207035c）存放于广西师范大学。

2　方法

2.1　提取与分离

干燥的柠檬清风藤茎（20.0 kg）粉碎后，以 75% 乙醇（50 L）浸泡，并加热回流提取 3 次，每次 3 h。合并提取液，减压浓缩，得粗浸膏 1.3 kg。将粗浸膏加水混悬后，依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取，分别得到石油醚部位（86.4 g）、醋酸乙酯部位（374.0 g）和正丁醇部位（789.0 g）。

醋酸乙酯部位（374.0 g）经 D101 大孔吸附树脂柱色谱，以 30%、50%、80%和 100%乙醇水溶液梯度洗脱，得到 4 个组分 Fr. A（68.0 g）、Fr. B（75.0 g）、Fr. C（90.0 g）和 Fr. D（45.0 g）。

Fr. A（68.0 g）经 RP-C_{18} 反相柱色谱，以 40%、50%、60%、70%、80%和 100%甲醇水溶液梯度洗脱，得到 6 个亚组分 Fr. A.1～A.6。其中，Fr. A.2（19.0 g）经硅胶柱色谱，以二氯甲烷-甲醇（100∶0→0∶100）梯度洗脱，得到 5 个亚组分 Fr. A.2.1～A.2.5。Fr. A.2.3（320.0 mg）经半制备型 HPLC 纯化（乙腈-水 20∶80），得到化合物 **1**（t_R＝23.0 min，3.2 mg）和 **2**（t_R＝19.2 min，4.0 mg）。

Fr. B（75.0 g）经硅胶柱色谱，以二氯甲烷-甲醇（100∶0→0∶100）梯度洗脱，得 6 个亚组分 Fr. B.1～B.6。Fr. B.2 经进一步纯化得 Fr. B.2.1（142.0 mg），再经半制备 HPLC 纯化（乙腈-水 20∶80）得化合物 **10**（5.0 mg）、**11**（3.0 mg）、**12**（11.0 mg）和 **13**（11.0 mg）。

Fr. C（90.0 g）经 RP-C_{18} 反相柱色谱，以 40%、50%、60%、70%、80%和 100%甲醇水溶液梯度洗脱，得到 6 个亚组分 Fr. C.1～C.6。其中，Fr. C.4（28.0 g）经硅胶柱色谱，以石油醚-醋酸乙酯（100∶0→0∶100）梯度洗脱，得到 8 个亚组分 Fr. C.4.1～C.4.8。Fr. C.4.2（3.9 g）再经硅胶柱色谱，以石油醚-醋酸乙酯（50∶1→2∶1）梯度洗脱，得到 4 个亚组分 Fr. C.4.2.1～C.4.2.4。Fr. C.4.2.2（130.0 mg）经制备型 HPLC 纯化（乙腈-水 80∶20），得到化合物 **3**（t_R＝17.3 min，5.3 mg）、**4**（t_R＝25.2 min，8.6 mg）和 **5**（t_R＝36.4 min，6.2 mg）；Fr. C.4.2.3（930.0 mg）

经制备型 HPLC 纯化（乙腈-水 77∶23），得到化合物 **6**（t_R＝8.2 min，20.0 mg）、**7**（t_R＝25.1 min，25.4 mg）；Fr. C.4.2.4（90.0 mg）经制备型 HPLC 纯化（乙腈-水 65∶35），得到化合物 **8**（t_R＝9.2 min，6.3 mg）和 **9**（t_R＝13.0 min，9.1 mg）。

2.2 化合物 1 和 2 的酸水解及糖的鉴定

化合物 **1** 和 **2** 的酸水解是参照文献报道的方法进行操作[11-12]。将化合物 **1** 和 **2** 点样在硅胶薄层色谱（TLC）板上，置于装有浓盐酸的密闭容器中，室温 HCl 蒸气水解 30 min，取出薄层色谱板，室温晾至无酸味，将葡萄糖标准品点样在同一硅胶 TLC 板上，二氯甲烷-甲醇-水-冰醋酸（7∶3∶0.15∶0.15）展开，邻苯二甲酸苯胺显色，结果表明化合物 **1** 和 **2** 酸水解产物中的糖为 *D*-葡萄糖（Rf 值为 0.41）[13]。进一步采用高效液相色谱（HPLC）法，以 GH0525046C18AQ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm，Sil Green）分离，甲酸-水（0.5∶100）为流动相，蒸发光散射检测器检测，通过与对照品保留时间比对，确定化合物 **1** 和 **2** 中的糖部分均为 *D*-葡萄糖。

2.3 化合物的抗炎活性筛选

采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞建立体外细胞炎症模型对分离得到的化合物活性进行测试，细胞培养和体外 NO 测定参照文献报道的方法[14-15]进行。

2.3.1 MTT 法测定化合物的细胞毒性实验　将 RAW 264.7 细胞以 1×10^5 个/孔、180 μL/孔接种在 96 孔板中。孵育过夜后，用 10 μL 1 μg/mL LPS 刺激细胞 2 h，把不同浓度的阳性对照和不同浓度的化合物 **1**～**13** 各 10 μL 加入孔板，设定 3 个复孔。于 37 ℃培养 24 h。往每孔里加 10 μL MTT 溶液，在 37 ℃培养 4 h。然后弃掉上清液，每孔加入 150 μL DMSO，震荡 10 min，完全溶解甲臜；计算细胞存活率。

2.3.2 Griess 法测定 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 的含量　RAW264.7 细胞的培养，与上述步骤相同。96 孔板换成 24 孔板，细胞加入体积和加药量体积比原来扩大 4 倍即可。用 LPS（1 μg/mL）诱导 24 h 后，收集细胞培养上清液，按照 NO 的试剂盒测试步骤进行检测，根据抑制率和浓度的关系计算半数抑制浓度（median inhibition concentration，IC_{50}）。

NO 抑制率＝(A_{LPS}－$A_{给药}$)/(A_{LPS}－$A_{空白}$)

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**：无色无定型物，易溶于甲醇等有机溶剂。$[\alpha]_D^{25}$ ＋73.0 (*c* 0.1, MeOH)。根据其 HRESIMS 给出的准分子离子峰 *m/z* 379.100 0 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{16}H_{20}O_9Na$, 379.100 5)，并结合分析 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 数据，可以推断该化合物的分子式为 $C_{16}H_{20}O_9$，不饱和度为 7。

化合物 **1** 的 ^{1}H-NMR 谱图（表 1）数据显示其结构中含有 1 个 1,3,4,6-四取代苯环片段 [δ_H 7.01 (1H, s), 6.63 (1H, s)]、1 个亚甲基 [δ_H 3.33(1H, m), 3.27 (1H, m)]、1 个次甲基 δ_H 4.19 (1H, m)、1 个葡萄糖质子信号 δ_H 4.67 (d, *J* = 7.1 Hz) 和 1 个甲氧基 δ_H 3.70 (s)。化合物 **1** 的 ^{13}C-NMR 和 HSQC 谱图显示其结构中含有 16 个碳信号，其中包括 1 个酯羰基 δ_C 175.0、1 个苯环、1 个亚甲基 δ_C 30.1、1 个次甲基 δ_C 45.8、1 个葡萄糖（δ_C 104.6、74.9、78.3、71.3、77.6 和 62.4）和 1 个甲氧基 δ_C 52.5。通过分析化合物 **1** 的 ^{1}H-^{1}H COSY 谱图，确定其结构中存在 H-7/H-8 的相关信号（图 2）。在 HMBC 谱（图 2）中，H-2 与 C-3/C-4/C-6、H-5 与 C-3/C-8、H-7 与 C-1/C-9 存在相关信号，说明结构中苯环通过 C-1–C-6 键与环丁烯相连形成罕见的双环[4.2.0]结构，并且酯羰基连接在 C-8 位；葡萄糖端头质子 H-1′与 C-

表 1　化合物 1 和 2 的 ^{1}H-和 ^{13}C-NMR 数据 (600/150 MHz, CD_3OD)

Table 1　^{1}H- and ^{13}C-NMR spectroscopic data for compounds 1 and 2 (600/150 MHz, CD_3OD)

碳位	1		2	
	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C
1		140.2		138.6
2	6.63 (s)	112.1	6.66 (s)	116.7
3		150.0		147.9
4		147.1		149.2
5	7.01 (s)	114.3	7.00 (s)	114.7
6		134.3		135.7
7	3.33 (m), 3.27 (m)	34.1	4.20 (m)	45.8
8	4.19 (m)	45.8	3.33 (m), 3.26 (m)	33.9
9		175.0		174.7
-OCH_3	3.73 (s)	52.5	3.73 (s)	52.5
Glc-1′	4.69 (d, *J* = 7.1 Hz)	104.9	4.68 (d, *J* = 7.1 Hz)	104.9
Glc-2′	3.46 (m)	74.9	3.46 (m)	74.9
Glc-3′	3.40 (m)	78.3	3.40 (m)	78.3
Glc-4′	3.38 (m)	71.3	3.38 (m)	71.3
Glc-5′	3.46 (m)	77.6	3.46 (m)	77.6
Glc-6′	3.70 (m), 3.88 (m)	62.4	3.71 (m), 3.89 (m)	62.4

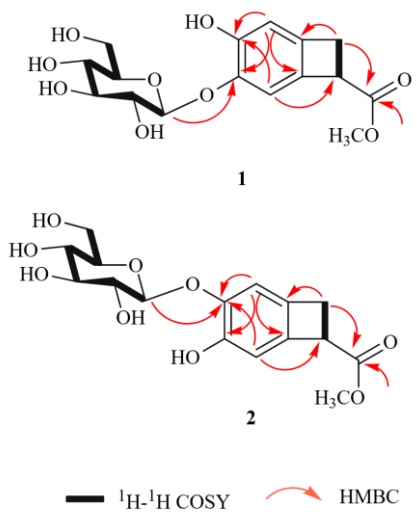


图 2　化合物 1 和 2 的关键 ^{1}H-^{1}H COSY 和 HMBC

Fig. 2　Key ^{1}H-^{1}H COSY and HMBC correlations of compounds 1 and 2

4 (δ_C 147.1) 之间存在 ^{1}H-^{13}C 远程相关，说明葡萄糖连接在 C-4 位；甲氧基 δ_H 3.73 与 C-9 (δ_C 175.0) 的相关信号说明甲氧基与酯羰基相连。在 ROESY 谱（图 3）中可以看到 H_1-7/H-8 相关，说明 H_1-7 与 H-8 在同侧。此外，通过水解得到 *D*-葡萄糖，根据偶合常数 $J_{1'2'}$=7.1 Hz 表明葡萄糖为 β 构型。

化合物 **1** 的绝对构型通过 ECD 计算与实验 ECD 对比进行确定：使用 Gaussian 软件，采用 MMFF 的分子立场水平，使用 5 kcal/mol 的能量窗口对 (8*R*)、(8*S*) 这 2 种构型进行构象搜索。将能量较低的构象运用密度泛函理论，在 B3LYP/6-31G (d,p) 的水平下进行优化和振动分析计算，并在此基础上计算各优势构象的玻尔兹曼分布占比。将振动分析计算结果在 B3LYP/6-31G (d,p) 水平下以甲醇为溶剂进行 ECD 计算，然后在 SpecDis1701 软件中对 ECD 计算结果进行拟合，使用 Origin 软件进行作图（图 4）。通

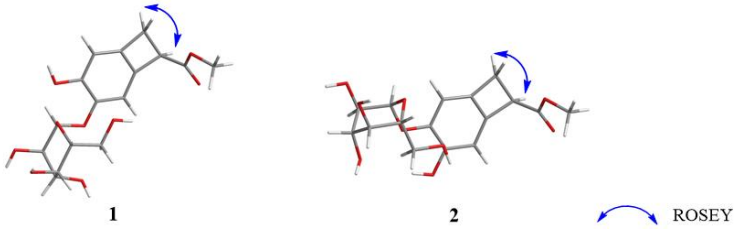


图 3　化合物 1 和 2 的 ROESY 相关图

Fig. 3　ROESY correlations of compounds 1 and 2

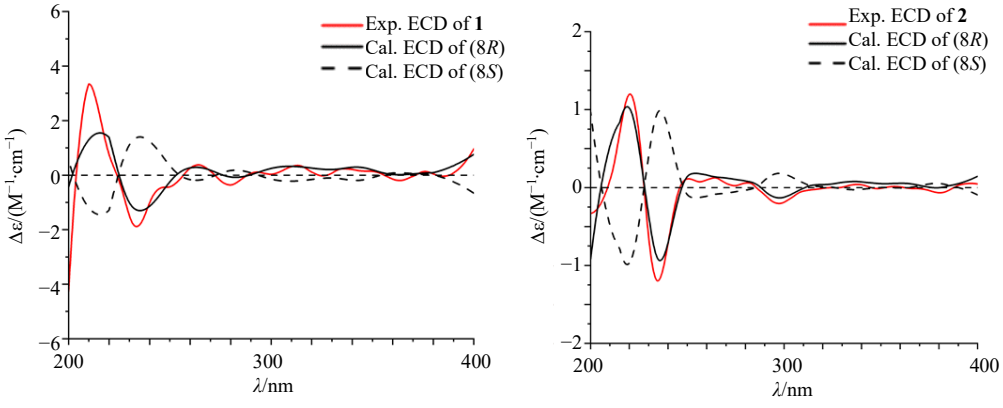


图 4　化合物 1 和 2 的实验测定 ECD 和计算 ECD 值

Fig. 4　Experimental ECD and calculation ECD spectra of compounds 1 and 2

过计算 (8*R*)、(8*S*) 与实测 ECD 曲线比对，确定化合物 **1** 的绝对构型为 8*R*。综上，确定化合物 **1** 的结构为 8*R*-3-羟基-双环[4.2.0]八-1,3,5-三烯-8-羧酸甲酯-4-*O*-β-*D*-葡萄糖苷，命名为柠檬清风藤苷 A（图 1）。

化合物 **2**：无色无定型物，易溶于甲醇等有机溶剂。$[\alpha]_D^{25}$ –27.3 (*c* 0.1, MeOH)。根据其 HRESIMS 给出的准分子离子峰 *m/z* 379.100 2 $[M+Na]^+$ (calcd for $C_{16}H_{20}O_9Na$, 379.100 5)，并结合分析 ^{1}H-NMR 和 ^{13}C-NMR 数据，推断该化合物的分子式为 $C_{16}H_{20}O_9$，不饱和度为 7。

化合物 **2** 与 **1** 的 NMR 谱图数据（表 1）非常相似，不同之处在于糖的连接位置不同。在化合物 **2** 的 HMBC 谱中观察到葡萄糖端基质子 H-1′与 C-4（δ_C 147.9）之间存在 ^{1}H-^{13}C 远程相关，说明葡萄糖连接在 C-3 位。在 ROESY 谱（图 3）中可以看到 H_1-7/H-8 相关，说明 H_1-7 与 H-8 在同一侧。通过实验 ECD 曲线与相应的理论计算 ECD 数据的比较，结果与 (8*R*)-ECD 曲线相吻合（图 4）。化合物 **2** 的结构最终确定 8*R*-3-羟基-双环[4.2.0]八-1,3,5-三烯-8-羧酸甲酯-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷，命名为柠檬清风藤苷 B（limonioside B）（图 1）。

化合物 **3**：无色油状物，溶于 $CHCl_3$。$[\alpha]_D^{25}$ +57.0 (*c* 0.4, $CHCl_3$)。ESI-MS *m*/*z*: 483.38 $[M+Na]^+$，分子式 $C_{30}H_{52}O_3$。^{1}H-NMR (600 MHz, Pyridine-d_5) δ: 5.42 (1H, t, *J* = 2.0 Hz, H-6), 3.71 (1H, ddd, *J* = 10.9, 3.4, 1.6 Hz, H-22), 3.52 (1H, m, H-3), 3.33 (1H, dt, *J* = 8.4, 2.2 Hz, H-7), 3.25 (3H, s, OCH_3), 1.02 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-21), 0.88 (3H, s, H-27), 0.87 (3H, s, H-22), 0.77 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-29), 0.69 (3H, s, H-18)；^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 37.2 (C-1), 31.8 (C-2), 71.7 (C-3), 42.2 (C-4), 144.2 (C-5), 121.6 (C-6), 82.1 (C-7), 37.4 (C-8), 48.6 (C-9), 36.7 (C-10), 21.4 (C-11), 39.8 (C-12), 43.4 (C-13), 56.2 (C-14), 26.0 (C-15), 27.9 (C-16), 52.6 (C-17), 12.1 (C-18), 19.2 (C-19), 42.7 (C-20), 12.6 (C-21), 71.5 (C-22), 30.1 (C-23), 41.6 (C-24), 28.9 (C-25), 17.8 (C-26), 20.8 (C-27), 23.8 (C-28), 12.0 (C-29), 55.1 (-OCH_3)。以上数据与文献一致[16]，故鉴定化合物 **3** 为施莱西司他丁 1。

化合物 **4**：白色粉末，溶于 $CHCl_3$。$[\alpha]_D^{25}$ − 50.0 (*c* 0.4, $CHCl_3$)。ESI-MS *m*/*z*: 469.36 $[M+Na]^+$，分子式 $C_{29}H_{50}O_3$。^{1}H-NMR (600 MHz, Pyridine-d_5) δ: 5.21 (1H, dd, *J* = 15.1, 8.8 Hz, H-22), 5.02 (1H, dd, *J* = 15.1, 8.8 Hz, H-23), 4.89 (1H, m, H-3), 1.68 (3H, s, H-19), 1.11 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.89 (9H, s, H-26, 27, 29), 0.79 (3H, s, H-18)；^{13}C-NMR (150 MHz, Pyridine-d_5) δ: 36.2 (C-1), 33.8 (C-2), 67.8 (C-3), 43.4 (C-4), 46.4 (C-5), 46.4 (C-6), 33.8 (C-7), 31.7 (C-8), 76.8 (C-9), 39.7 (C-10), 22.3 (C-11), 41.4 (C-12), 43.4 (C-13), 57.2 (C-14), 25.2 (C-15), 29.9 (C-16), 57.2 (C-17), 13.1 (C-18), 17.7 (C-19), 41.4 (C-20), 19.7 (C-21), 139.5 (C-22), 129.8 (C-23), 51.9 (C-24), 33.0 (C-25), 22.0 (C-26), 21.8 (C-27), 26.2 (C-28), 13.1 (C-29)。以上数据与文献报道一致[17]，故鉴定化合物 **4** 为豆甾-22-烯-3β,6β,9β-三醇。

化合物 **5**：无色针状晶体（甲醇）。$[\alpha]_D^{25}$ −35.2 (c 0.1, MeOH)。ESI-MS *m*/*z*: 469.36 $[M+Na]^+$，分子式 $C_{29}H_{50}O_3$。^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.87 (1H, d, *J* = 4.9 Hz, H-6), 4.18 (1H, br s, H-4), 3.94 (1H, t, *J* = 4.5 Hz, H-7), 3.70 (1H, m, H-3), 1.18 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-21), 0.90 (6H, s, H-27, 29), 0.78 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-26), 0.71 (3H, s, H-18)；^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 37.2 (C-1), 24.6 (C-2), 72.2 (C-3), 77.1 (C-4), 147.2 (C-5), 129.7 (C-6), 65.4 (C-7), 37.7 (C-8), 42.6 (C-9), 36.8 (C-10), 23.7 (C-11), 39.2 (C-12), 42.6 (C-13), 49.1 (C-14), 20.2 (C-15), 27.6 (C-16), 52.9 (C-17), 12.0 (C-18), 19.5 (C-19), 42.7 (C-20), 12.5 (C-21), 71.4 (C-22), 30.0 (C-23), 41.5 (C-24), 28.8 (C-25), 17.6 (C-26), 19.5 (C-27), 23.7 (C-28), 11.8 (C-29)。以上数据与文献报道一致[18]，故鉴定化合物 **5** 为豆甾-5-烯-3β,4β,7α,22α-四醇。

化合物 **6**：无色油状物。$[\alpha]_D^{25}$ −23.2 (*c* 0.1, MeOH)。ESI-MS *m*/*z*: 465.37 $[M+Na]^+$，分子式 $C_{30}H_{50}O_2$。^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.27 (1H, t, *J* = 7.4 Hz, H-24), 5.23 (1H, q, *J* = 3.2 Hz, H-7), 4.11 (2H, s, H-26), 3.22 (1H, dd, *J* = 11.5, 4.1 Hz, H-3), 1.77 (3H, d, *J* = 1.3 Hz, H-27), 0.95 (3H, s, H-28), 0.86 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 0.84 (3H, s, H-29), 0.78 (3H, s, H-18), 0.72 (3H, s, H-19)；^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 37.4 (C-1), 27.8 (C-2), 79.5 (C-3), 39.2 (C-4), 50.8 (C-5), 24.1 (C-6), 118.1 (C-7), 146.0 (C-8), 49.1 (C-9), 35.1 (C-10), 18.3 (C-11), 34.0 (C-12), 43.7 (C-13), 51.4 (C-14), 34.2 (C-15), 24.8 (C-16), 53.1 (C-17), 22.1 (C-18), 13.3 (C-19), 36.1 (C-20), 18.5 (C-21), 36.7 (C-22), 27.9 (C-23), 129.4 (C-24), 134.0 (C-25), 61.9 (C-26), 21.5 (C-27), 27.8 (C-28), 14.9 (C-29), 27.5 (C-30)。以上数据与文献报道一致[19]，故鉴定化合物 **6** 为 (24*Z*)-7,24-甘遂二烯-3β,27-二醇。

化合物 **7**：橙红色晶体（氯仿）。ESI-MS *m*/*z*: 271.06 $[M+H]^+$，分子式 $C_{15}H_{10}O_5$，^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ: 11.96 (2H, s, -OH), 7.35 (1H, brs, H-4), 7.04 (1H, brs, H-5), 7.00 (1H, brs, H-2), 6.48 (1H, brs, H-7), 2.35 (3H, s, CH_3)；^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d_6) δ: 161.4 (C-1), 124.1 (C-2), 148.1 (C-3), 120.4 (C-4), 132.7 (C-4a), 108.5 (C-5), 164.6 (C-6), 107.9 (C-7), 154.6 (C-8), 109.4 (C-8a), 189.2 (C-9), 120.4 (C-9a), 181.4 (C-10), 134.9 (C-10a), 21.6 (CH_3)。

以上数据与文献报道一致[20]，故鉴定化合物 **7** 为大黄素。

化合物 **8**：无色油状物。ESI-MS *m*/*z*: 331.28 $[M+H]^+$，分子式 $C_{19}H_{38}O_4$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 4.21 (1H, dd, *J* = 11.7, 4.6 Hz, H-1a), 4.15 (1H, dd, *J* = 11.7, 6.1 Hz, H-1b), 3.93 (1H, m, H-2), 3.70 (1H, dd, *J* = 11.5, 3.9 Hz, H-3a), 3.60 (1H, dd, *J* = 11.5, 5.8 Hz, H-3b), 2.35 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-2′), 0.81 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-16′)；^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 65.3 (C-1), 70.5 (C-2), 63.5 (C-3), 174.6 (C-1′), 34.4 (C-2′), 32.1 (C-3′), 29.9 (C-4′), 29.9 (C-5′), 29.9 (C-6′), 29.9 (C-7′), 29.8 (C-8′), 29.7 (C-9′), 29.6 (C-10′), 29.5 (C-11′), 29.3 (C-12′), 29.3 (C-13′), 25.1 (C-14′), 22.9 (C-15′), 14.4 (C-16′)。以上数据与文献报道一致[21]，故鉴定化合物 **8** 为单棕榈酸甘油酯。

化合物 **9**：无色油状物。$[\alpha]_D^{25}$ −35.2 (*c* 0.1, MeOH)。ESI-MS *m*/*z*: 377 $[M+Na]^+$，分子式 $C_{21}H_{38}O_4$。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 5.45～5.24 (4H, m, H-9′, 10′, 12′, 13′), 4.17 (2H, m, H-1), 3.93 (1H, m, H-2), 3.69 (2H, m, H-3), 0.88 (3H, t, *J* = 6.8 Hz, H-18′)；^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 65.3 (C-1), 70.4 (C-2), 63.5 (C-3), 174.5 (C-1′), 34.3 (C-2′), 25.0 (C-3′), 29.7 (C-5′), 29.5 (C-6′), 29.3 (C-7′), 27.3 (C-8′), 130.4 (C-9′), 128.2 (C-10′), 24.8 (C-11′), 128.0 (C-12′), 130.2 (C-13′), 27.3 (C-14′), 31.7 (C-15′), 31.7 (C-16′), 22.7 (C-17′), 14.2 (C-18′)。以上数据与文献报道一致[22]，故鉴定化合物 **9** 为 1-亚油酰甘油。

化合物 **10**：无色针状晶体（甲醇）。HRESIMS *m*/*z* $[M+H]^+$ 169.050 3 (calcd for $C_8H_9O_3$, 169.050 1)；^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ: 7.56 (1H, s, H-2), 6.83 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5), 7.54 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 3.89 (3H, s, -OCH_3)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ: 123.0 (C-1), 113.7 (C-2), 152.5 (C-3), 148.6 (C-4), 115.7 (C-5), 125.2 (C-6), 170.3 (C = O), 56.3 (-OCH_3)。以上数据与文献报道一致[23]，故鉴定化合物 **10** 为香草酸。

化合物 **11**：无色针状晶体（甲醇）。HRESIMS *m*/*z* $[M]^+$ 154 (calcd for $C_7H_6O_4$, 154.026 6)；^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ: 7.44 (1H, s, H-2), 6.79 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 7.42 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ: 123.2 (C-1), 115.7 (C-2), 146.0 (C-3), 151.3 (C-4), 117.7 (C-5), 123.8 (C-6), 173.2 (C=O)。以上数据与文献报道一致[24]，故鉴定化合物 **11** 为原儿茶酸。

化合物 **12**：白色固体；^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ: 7.11 (1H, s, H-2), 6.97 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5), 7.15 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6), 3.87 (3H, s, -OCH_3), 3.86 (3H, s, -OCH_3)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ: 129.0 (C-1), 111.4 (C-2), 145.7 (C-3), 117.9 (C-4), 152.5 (C-5), 150.7 (C-6), 112.2 (C-7), 123.7 (C-8), 170.8 (C = O), 56.4 (-OCH_3), 56.4 (-OCH_3)。以上数据与文献报道一致[25]，故鉴定化合物 **12** 为甲基阿魏酸。

化合物 **13**：黄色油状物；^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ: 6.91 (1H, s, H-2), 6.91 (1H, s, H-6), 7.57 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-7), 6.44 (1H, d, *J* = 15.7 Hz, H-7), 3. 87 (3H, s, -OCH_3), 3.79 (3H, s, -OCH_3), 3.87 (3H, s, -OCH_3)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ: 131.9 (C-1), 106.5 (C-2), 154.8 (C-3), 145.6, (C-4), 154.8 (C-5), 106.5 (C-6), 141.0 (C-7), 119.8 (C-8), 171.5 (C=O), 56.6 (-OCH_3), 61.1 (-OCH_3), 56.6 (-OCH_3)。以上数据与文献报道一致[26]，故鉴定化合物 **13** 为 3,4,5-三甲氧基肉桂酸。

3.2 抗炎活性筛选结果

考察了化合物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞中抑制 NO 生成的作用，结果见表 2。可以看出化合物 **6** 诱导 RAW264.7 细胞中 NO 生成具有较好的抑制

表 2 化合物 1～13 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 NO 生成的抑制作用（$\bar{x}\pm s$, $n=6$）

Table 2 Inhibitory activities on NO of compounds 1—13 in LPS-induced RAW264.7 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

化合物	IC_{50}/(μmol·L^{-1})
1	＞80
2	＞80
3	＞80
4	＞80
5	52.73±2.01
6	29.25±1.65
7	＞80
8	＞80
9	＞80
10	＞80
11	＞80
12	69.31±0.23
13	＞80
地塞米松	44.99±1.10

作用，其 IC_{50} 值为 29.25 μmol/L。MTT 实验结果表明所有化合物在浓度为 50 μmol/L 时无明显细胞毒性。

4 讨论

本研究对柠檬清风藤茎的化学成分进行了系统分离与结构鉴定，共获得 13 个化合物，其中化合物 **1** 和 **2** 为 2 个新的苯并环丁烯类苷。苯并环丁烯骨架由四元环与苯环稠合而成，因其较大的环张力而在合成化学领域受到广泛关注。已有研究表明，该骨架亦可存在于植物次生代谢产物中，如从不显蓝壶花 *Muscari neglectum* 中分离得到的 scillascillin 及其类似物，以及从墨西哥珊瑚坠子 *Bessera elegans* 中获得的 scillascillin 型同异黄酮[23-26]。值得注意的是，既往报道的苯并环丁烯类天然产物主要集中于 scillascillin 型同异黄酮，而本研究分离得到的化合物 **1** 和 **2** 则属于结构更为简洁的苯并环丁烯类苷。该结果不仅丰富了苯并环丁烯类天然产物的结构类型，也在一定程度上拓展了该类骨架的植物来源分布范围，具有一定的新颖性和化学分类学意义。此外，抗炎活性评价结果表明，化合物 **6** 对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞 NO 生成具有较好的抑制作用，提示其具有一定的抗炎活性。本研究丰富了柠檬清风藤的化学成分库，并为该植物中抗炎活性成分的发现与开发利用提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 卜庆, 梁林富, 钟林静, 等. 清风藤属化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2023, 58(13): 1157-1165.

[2] 朱丽丽, 钟林静, 徐梦娟, 等. 白背清风藤的三萜类化学成分研究 [J]. 林产化学与工业, 2022, 42(4): 95-100.

[3] Ma J H, Hu D, Deng L L, *et al*. Pentacyclic triterpenoids from *Sabia discolor* dunn and their α-glycosidase inhibitory activities [J]. *Molecules*, 2022, 27(7): 2161-2172.

[4] 周强, 杜伟东, 李志峰, 等. 小花清风藤中 2 个新的化学成分 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 1939-1942.

[5] 朱仝飞, 朱小庆, 李志峰, 等. 小花清风藤中生物碱类成分的研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2024, 34(2): 120-125.

[6] Feng Y, Chen R H, Li Y M, *et al*. Sabinineoside B alleviates metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease by targeting PPARα [J]. *Commun Biol*, 2026, 9: 840-856.

[7] 广西壮族自治区瑶药材质量标准 (第一卷) [S]. 2014: 269.

[8] Huang Y, Hou P, Pan L W, *et al*. Oleanane-type triterpenoids from *Sabia limoniacea* and their anti-inflammatory activities [J]. *Bioorg Chem*, 2024, 151: 107683-107694.

[9] Hou P, Pan L W, Peng L T, *et al*. Oleanane-type triterpenoids from *Sabia limoniacea* with nitric oxide inhibitory activity [J]. *Phytochemistry*, 2025, 236: 114497-114506.

[10] 黄艳, 张春来, 稂文旺, 等. 毛萼清风藤中一个新的氧化阿朴菲碱类化合物 [J]. 药学学报, 2018, 53(5): 778-781.

[11] 孙淼杰, 王艳林, 韩欣桐, 等. 三七根茎中黄酮类成分及其抗血小板聚集活性研究 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1500-1507.

[12] Huang Y, Pan L W, Chang Y L, *et al*. Megastigmane glycosides from *Streblus ilicifolius* (S. Vidal) Corner and their anti-inflammatory activity [J]. *Phytochemistry*, 2023, 208: 113606-113619.

[13] 王俊林, 张炜, 尚宇欣, 等. 藏药肉果草中 1 对新的木脂素苷 [J]. 中草药, 2023, 54(10): 3049-3053.

[14] 黄艳, 侯萍, 任晨阳, 等. 红叶野桐茎中 1 个新的二萜苷类化合物 [J]. 中草药, 2024, 55(13): 4305-4311.

[15] 史慧丹, 王雪梅, 李熙萌, 等. 藏药高原天名精中 2 个新的倍半萜类成分 [J]. 中草药, 2026, 57(11): 4089-4095.

[16] Pettit G R, Numata A, Cragg G M, *et al*. Isolation and structures of schleicherastatins 1–7 and schleicheols 1 and 2 from the teak forest medicinal tree *Schleichera oleosa* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(1): 72-78.

[17] 周小菊, 李振麟, 李杰, 等. 女萎化学成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 557-562.

[18] Li Y S, Ishibashi M, Satake M, *et al*. Sterol and triterpenoid constituents of *Verbena littoralis* with NGF-potentiating activity [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(5): 696-698.

[19] Zhao W Y, Chen J J, Zou C X, *et al*. New tirucallane triterpenoids from *Picrasma quassioides* with their potential antiproliferative activities on hepatoma cells [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 84: 309-318.

[20] 贾振宝, 陈文伟, 蒋家新, 等. 决明子中蒽醌类化学成分的研究 [J]. 林产化学与工业, 2009, 29(3): 100-102.

[21] 王思玉, 向俊, 汪玉梅, 等. 海藻羊栖菜全草化学成分

研究 [J]. 中草药, 2019, 50(23): 5670-5676.

[22] Kim D G, Kang M J, Hong S S, *et al*. Antiinflammatory effects of functionally active compounds isolated from aged black garlic [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(1): 53-61.

[23] Barone G, Corsaro M M, Lanzetta R, *et al*. Homoisoflavanones from *Muscari neglectum* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(3): 921-923.

[24] Adinolfi M, Barone G, Giordano F, *et al*. Absolute configuration of benzocyclobutene homoisoflavanones from *Muscari* species [J]. *Tetrahedron*, 1990, 46(18): 6565-6574.

[25] Matsuo Y, Kurihara R, Akagi N, *et al*. Two new homoisoflavonoids from the bulbs of *Bessera elegans* [J]. *Nat Prod Commun*, 2014, 9(12): 1725-1727.

[26] Abegaz B M, Mutanyatta-Comar J, Nindi M. Naturally occurring homoisoflavonoids: Phytochemistry, biological activities and synthesis [J]. *Nat Prod Commun*, 2007, 2(4): 1934578X0700200418.

[责任编辑　王文倩]