

地榆中酚类成分及其 Nrf2 激动活性研究

吴龙龙¹, 刘静雯², 余钟莲¹, 张刘强^{1*}, 李医明^{1*}

(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 上海中医药大学科技实验中心, 上海 201203)

摘要: 采用大孔树脂、硅胶、ODS、Sephadex LH-20、半制备 HPLC 等多种色谱技术从地榆饮片 (*Sanguisorbae Radix*) 的 95% 乙醇提取物中分离纯化得到 31 个酚类化合物, 通过理化性质、波谱数据 (MS、NMR)、电子圆二色谱 (ECD) 等技术确定化合物的结构, 分别鉴定为 3-methoxyl-2*S*,3*S*-epoxyflavanone (**1a**)、3-methoxyl-2*R*,3*R*-epoxyflavanone (**1b**)、longifoin B (**2**)、longifoin C (**3**)、圣草酚 (**4**)、柚皮素 (**5**)、甘草素 (**6**)、5,3'-二羟基-7,4'-二甲氧基二氢黄酮 (**7**)、柚皮素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (**8**)、二氢槲皮素 (**9**)、二氢山柰酚 (**10**)、(-)-garbanzol (**11**)、(2*R*,3*R*)-4-methoxyl-distylin (**12**)、山柰酚 (**13**)、槲皮素 (**14**)、 α ,4,2',4'-tetrahydroxydihydrochalcone (**15**)、phloretin (**16**)、(+)-儿茶素 (**17**)、ethyl (+)-cyanidan-3-ol-8-carboxylate (**18**)、phyllocoumarin (**19**)、methyl 3-methoxy-4,5-dihydroxybenzoate (**20**)、4,5-dimethoxy-3-hydroxybenzoic acid methyl ester (**21**)、3,4'-*O*-methylellagic acid (**22**)、3,4,3'-三甲基逆没食子酸 (**23**)、3,3',4'-*O*-trimethylellagic acid-4-*O*- β -*D*-xyloside (**24**)、(3*R*)-thunberginol C (**25**)、resveratrol (**26**)、1-hydroxypinoresinol (**27**)、(7*S*,8*S*)-3-methoxy-3',7-epoxy-8,4'-oxyneoligna-4,9,9'-triol (**28**)、大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (**29**)、phloracetophenone (**30**) 和 4-(4'-hydroxyphenyl)-butan-2-one (**31**)。其中化合物 **1a** 和 **1b** 为一对新的 2,3-环氧黄酮对映异构体, 化合物 **2** 和 **3** 为一对新的差向异构体, 化合物 **4**、**5**、**6**、**9**、**10**、**13**、**16** 和 **26** 为首次从该植物中分离得到, 化合物 **7**、**8**、**27**、**30** 和 **31** 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 **11**、**12**、**15**、**18**、**19**、**25**、**28** 和 **29** 为首次从蔷薇科植物中分离得到。通过双荧光素酶报告基因实验在 293T 细胞中测定化合物 **1**~**24** 对核因子- κ B 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 的激动活性, 结果表明, 化合物 **4**、**6**~**10**、**12**、**14**、**17**、**19**、**20** 和 **22**~**24** 对 Nrf2 在 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下表现出显著的促转录活性, 为该类化合物的抗氧化活性研究提供参考。

关键词: 地榆; 酚类成分; 黄酮; 2,3-环氧黄酮; Nrf2 激动活性; 抗氧化

中图分类号: R914 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)01-0170-13

Phenolic constituents of *Sanguisorba officinalis* and their Nrf2 agonistic effect

WU Long-long¹, LIU Jing-wen², YU Zhong-lian¹, ZHANG Liu-qiang^{1*}, LI Yi-ming^{1*}

(1. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Experiment Center for Science and Technology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: Thirty-one phenolic constituents were isolated and purified from the 95% ethanol extract of *Sanguisorbae Radix* by using various chromatographic techniques, including macroporous resin, silica gel, ODS, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC. Their structures were elucidated by physicochemical properties, spectroscopic data (MS and NMR) and electronic circular dichroism (ECD) spectra, and identified as 3-methoxyl-2*S*,3*S*-epoxyflavanone (**1a**), 3-methoxyl-2*R*,3*R*-epoxyflavanone (**1b**), longifoin B (**2**), longifoin C (**3**), eriodictyol (**4**),

收稿日期: 2023-04-12; 修回日期: 2023-06-12.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81973458); 转化医学国家重大科技基础设施开放课题 (TMSK-2021-404); 上海市“中药药效物质”E-研究院项目 (E14017).

*通讯作者 Tel: 86-21-51322207, E-mail: 04100217@163.com;

Tel: 86-21-51322191, E-mail: ymlius@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0456

naringenin (5), liquiritigenin (6), 5,3'-dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavanone (7), naringenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (8), dihydroquercetin (9), dihydrokaempferol (10), (-)-garbanzol (11), (2*R*,3*R*)-4-methoxyl-distylin (12), kaempferol (13), quercetin (14), α ,4,2',4'-tetrahydroxydihydrochalcone (15), phloretin (16), (+)-catechin (17), ethyl (+)-cyanidan-3-ol-8-carboxylate (18), phyllocoumarin (19), methyl 3-methoxy-4,5-dihydroxybenzoate (20), 4,5-dimethoxy-3-hydroxybenzoic acid methyl ester (21), 3,4'-di-*O*-methylellagic acid (22), 3,4,3'-*O*-trimethylellagic acid (23), 3,3',4'-*O*-trimethylellagic acid-4-*O*- β -D-xyloside (24), (3*R*)-thunberginol C (25), resveratrol (26), 1-hydroxypinoresinol (27), (7*S*,8*S*)-3-methoxy-3',7-epoxy-8,4'-oxyneoligna-4,9,9'-triol (28), emodin-8-*O*- β -D-glucoside (29), phloracetophenone (30) and 4-(4'-hydroxyphenyl)-butan-2-one (31). Among them, compound 1a and 1b is a pair of new flavonoid enantiomers, compounds 2 and 3 are a pair of new epimers, while compounds 4, 5, 6, 9, 10, 13, 16 and 26 were obtained from *S. officinalis* for the first time, compounds 7, 8, 27, 30 and 31 were isolated for the first time from the *S. officinalis* genus, and compounds 11, 12, 15, 18, 19, 25, 28 and 29 were isolated for the first time from the Rosaceae. The antioxidant activities of compounds 1–24 were evaluated by activating the Nrf2 transcriptional pathway, which were measured by the dual-luciferase reporter gene assay in 293T cells. Compounds 4, 6–10, 12, 14, 17, 19, 20 and 22–24 showed significant Nrf2 agonistic effect compared with the control group at 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, which provided reference for the research of their antioxidant activity.

Key words: *Sanguisorba officinalis*; phenolic constituents; flavonoids; 2,3-epoxyflavanone; Nrf2 agonistic effect; antioxidant

地榆 (*Sanguisorbae Radix*) 为蔷薇科地榆属植物地榆 (*Sanguisorba officinalis* L.) 或长叶地榆 [*Sanguisorba officinalis* L. var. *longifolia* (Bert.) Yü et Li] 的干燥根, 主要分布于内蒙古、吉林、四川等地^[1]。地榆是我国传统中药, 始载于《神农本草经》, 其性微寒, 味苦、酸、涩, 归肝、大肠经, 具有凉血止血、解毒敛疮之功效, 可用于治疗便血、痔血, 血痢, 崩漏, 水火烫伤, 痈肿疮毒等症, 为“水火烫伤之要药”^[2]。目前地榆主要用于血液系统和免疫系统疾病的治疗, 尤其是地榆升白片可针对于肿瘤患者化疗之后, 以及药物、化学毒物、病毒性肝炎和某些病毒细胞感染等多种原因引起的白细胞减少症, 也可以用于血小板减少、免疫力低下、再生障碍性贫血的治疗。目前从地榆中分离鉴定出的化学成分主要为鞣质、三萜、黄酮和多糖等, 还有少量的有机酸、甾体及蒽醌类成分^[3-5]。现代药理学研究表明, 地榆具有止血、抗菌、抗肿瘤、抗过敏、抗炎消肿、抗氧化、改善血液系统及神经保护等作用^[3]。为进一步研究地榆的化学成分及其生物活性, 为其药效物质基础研究提供丰富的样品, 本实验对地榆 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位采用多种色谱方法进行分离, 并用各种波谱技术鉴定结构, 共得到了 31 个酚类化合物, 分别鉴定为 3-methoxyl-2*S*,3*S*-epoxyflavanone (1a)、3-methoxyl-2*R*,3*R*-epoxyflavanone (1b)、longifoin B (2)、longifoin C (3)、圣草酚 (4)、柚皮素 (5)、甘草素 (6)、5,3'-二羟基-7,4'-二甲氧基二氢黄酮 (7)、柚皮素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷 (8)、二氢槲皮素 (9)、二氢山柰酚 (10)、(-)-garbanzol (11)、(2*R*,3*R*)-4-methoxyl-distylin (12)、山柰酚 (13)、槲皮素 (14)、 α ,4,2',4'-tetrahydroxydihydrochalcone (15)、phloretin

(16)、(+)-儿茶素 (17)、ethyl (+)-cyanidan-3-ol-8-carboxylate (18)、phyllocoumarin (19)、methyl 3-methoxy-4,5-dihydroxybenzoate (20)、4,5-dimethoxy-3-hydroxybenzoic acid methyl ester (21)、3,4'-di-*O*-methylellagic acid (22)、3,4,3'-三甲基逆没食子酸 (23)、3,3',4'-*O*-trimethylellagic acid-4-*O*- β -D-xyloside (24)、(3*R*)-thunberginol C (25)、resveratrol (26)、1-hydroxypinoresinol (27)、(7*S*,8*S*)-3-methoxy-3',7-epoxy-8,4'-oxyneoligna-4,9,9'-triol (28)、大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 (29)、phloracetophenone (30) 和 4-(4'-hydroxyphenyl)-butan-2-one (31), 结构见图 1。其中化合物 1 为新化合物且为一对光学对映异构体, 分别命名为 3-methoxyl-2*S*,3*S*-epoxyflavanone (1a) 和 3-methoxyl-2*R*,3*R*-epoxyflavanone (1b), 化合物 2 和 3 为一对新的差向异构体, 化合物 4、5、6、9、10、13、16 和 26 为首次从该植物中分离得到, 化合物 7、8、27、30 和 31 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 11、12、15、18、19、25、28 和 29 为首次从蔷薇科植物中分离得到。Nrf2 是一种转录因子, 是机体主要的防御机制之一, 可驱动超过 300 个抗氧化反应元件 (antioxidant responsive element, ARE) 调控基因的转录, 参与机体多种稳态功能, 包括氧化还原调节、外源解毒、蛋白质平衡和初级代谢^[6,7]。Nrf2 作为内源性抗氧化通路, 可通过诱导调控细胞内 II 相解毒酶和抗氧化酶基因的表达, 参与细胞抗氧化应激, 维持机体氧化还原稳态^[8,9]。研究表明天然植物中的多酚类化合物具有显著的抗氧化作用, 可作为 Nrf2 激活剂, 如 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯、没食子酸、姜黄素、白藜芦醇等^[10-14]。Nrf2-双荧光素酶报告基因实验显示化合物 4、6–10、12、14、17、19、20 和 22–24 对

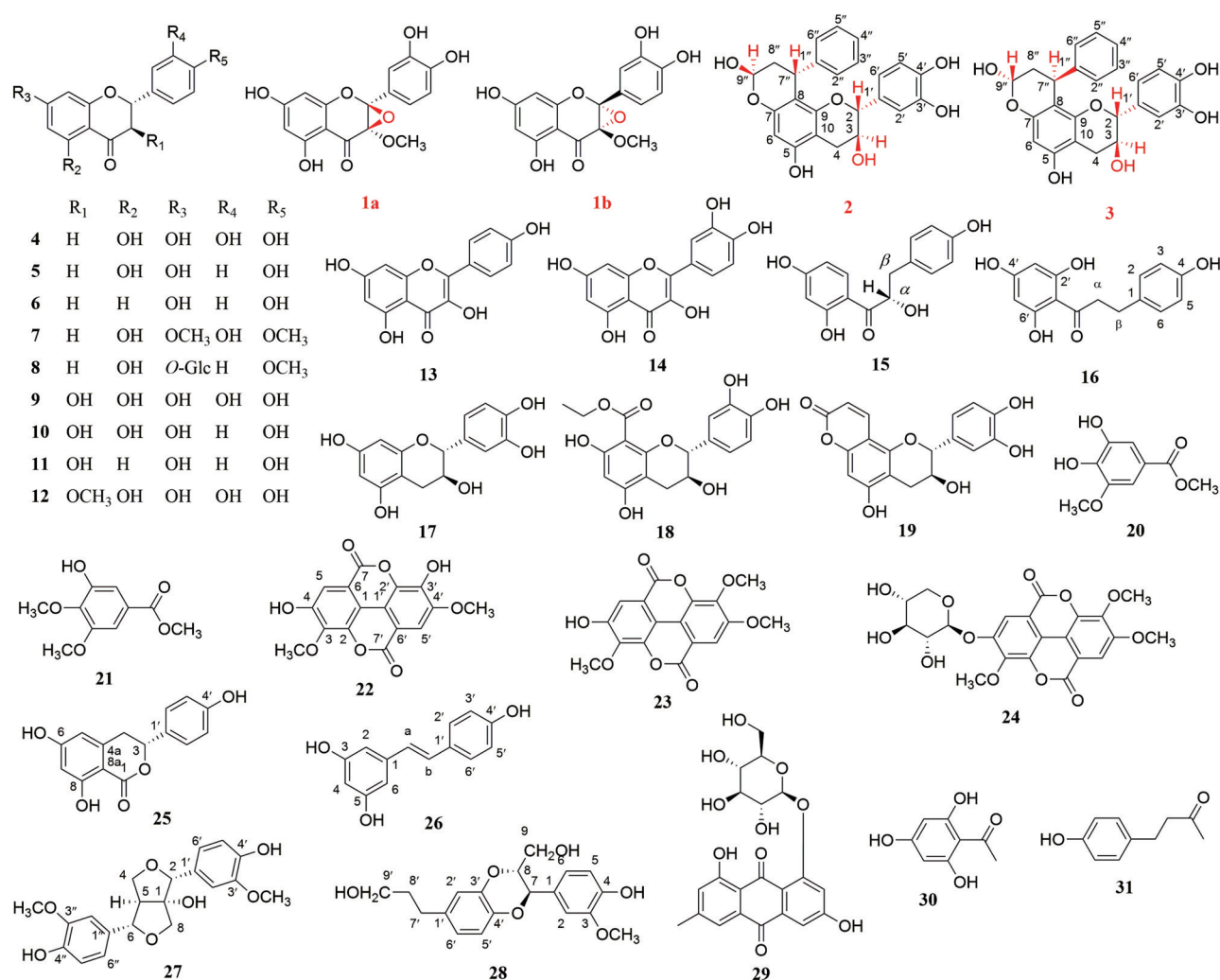


Figure 1 Structures of compounds 1-31

Nrf2 在 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下表现出显著的促转录活性, 表明此类化合物可能具有潜在的抗氧化活性。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 1: 黄色固体, 易溶于甲醇, 紫外 254 nm 下观察有暗斑, 浓硫酸-香兰素染色显黄色。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -2.50$ (c 0.10, MeOH); HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 331.046 8 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ (计算值 331.045 9, $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{O}_8$), 确定分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_8$, 不饱和度为 11。

在 ^1H NMR (表 1) 谱中低场区显示一组 AB 偶合系统的 2 个芳氢质子信号: δ_{H} 6.00 (1H, t, $J = 2.0$ Hz), 5.96 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 一般为黄酮 A 环上的芳氢; 一组 ABX 偶合系统的 3 个芳氢质子信号: δ_{H} 7.15 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 7.02 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz), 6.80 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 一般为黄酮 B 环上的芳氢。 ^{13}C NMR (表 1) 谱中给出 16 个碳信号, 结合 DEPT 和 HSQC 谱, 确定

甲氧基碳信号 1 个、含氧仲碳信号 2 个, 芳香叔碳信号 5 个, 连氧芳香叔碳信号 5 个, 芳香季碳信号 2 个, 羰基碳信号 1 个, 推测该化合物具有一个甲氧基取代的黄酮母核。除了 C-2 和 C-3 位之外, 以上的 NMR 数据和文献^[15]报道的 3-甲氧基槲皮素 ($\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$) 的结构片段相似。结合多一个氧原子和 HMBC 谱分析, 发现甲氧基氢 δ_{H} 3.06 (s) 与连氧仲碳 δ_{C} 107.5 (C-2) 和 δ_{C} 95.1 (C-3)、羰基碳 δ_{C} 193.8 (C-4) 有相关, 表明 C-2 和 C-3 之间存在一个三元环氧结构, 与已报道 2,3-环氧黄酮类化合物的碳信号位移规律相一致^[16-18]。综上, 可以确定该化合物的平面结构为 3-methoxy-2,3-epoxyflavanone。在 NOESY 谱中观察到甲氧基氢 δ_{H} 3.06 与 δ_{H} 7.15 (H-5'), 7.02 (H-6') 有相关, 表明 C-3 位甲氧基与 C-2 位 B 环位于同侧, 同为 α 构型或 β 构型, 其 C-2, C-3 的绝对构型有 2*S*, 3*S* 或 2*R*, 3*R* 两种情况。

由于该化合物比旋光度很小, 为 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -2.50$ (c 0.10, MeOH), 且 ECD 光谱中无明显的 Cotton 效应, 推

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR data of compounds **1**–**3** (600/150 MHz, CD_3OD)

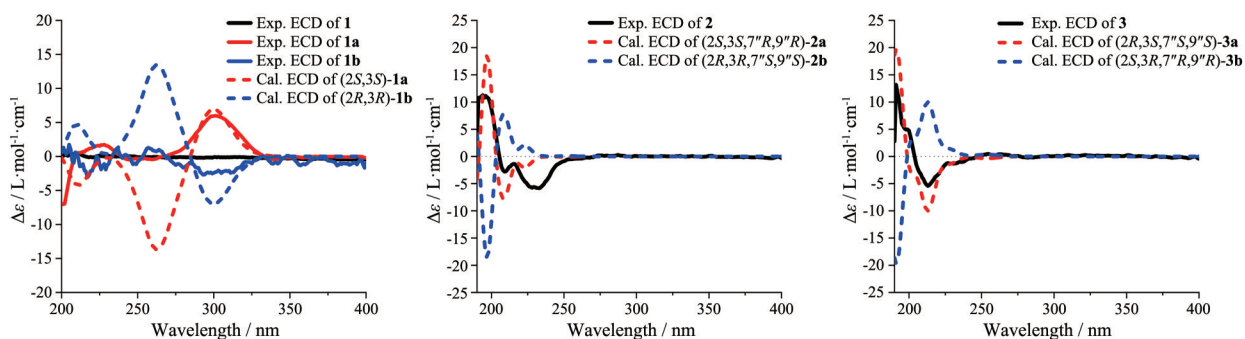
No.	1		2		3	
	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)
2	107.5 (s)	–	82.7 (d)	4.47 (d, 7.8)	82.2 (d)	4.28 (d, 7.2)
3	95.1 (s)	–	69.2 (d)	3.65 (td, 7.8, 5.4)	68.3 (d)	3.94 (td, 7.6, 5.4)
4	193.8 (s)	–	28.7 (t)	2.84 (dd, 16.2, 5.4)	28.4 (t)	2.85 (dd, 16.2, 5.4)
				2.52 (dd, 16.2, 8.5)		2.51 (dd, 16.2, 7.9)
5	165.2 (s)	–	156.4 (s)	–	156.4 (s)	–
6	97.8 (d)	5.96 (d, 2.0)	96.1 (d)	6.02 (s)	96.2 (d)	6.02 (s)
7	169.6 (s)	–	154.7 (s)	–	154.6 (s)	–
8	97.4 (d)	6.00 (d, 2.0)	103.5 (s)	–	103.7 (s)	–
9	160.2 (s)	–	153.7 (s)	–	153.9 (s)	–
10	101.1 (s)	–	101.8 (s)	–	102.2 (s)	–
1'	126.3 (s)	–	132.0 (s)	–	132.1 (s)	–
2'	117.6 (d)	7.15 (d, 2.0)	115.5 (d)	6.44 (d, 1.7)	115.0 (d)	6.65 (d, 1.7)
3'	145.5 (s)	–	145.7 (s)	–	145.9 (s)	–
4'	147.2 (s)	–	145.5 (s)	–	145.9 (s)	–
5'	115.3 (d)	6.80 (d, 8.3)	115.8 (d)	6.44 (d, 8.1)	115.9 (d)	6.65 (d, 8.1)
6'	122.0 (d)	7.02 (dd, 8.3, 2.0)	119.2 (d)	5.97 (dd, 8.1, 1.7)	119.8 (d)	6.45 (dd, 8.1, 1.7)
1''			148.0 (s)	–	147.7 (s)	–
2'',6''			128.9 (d)	7.06 (d, 7.4)	128.6 (d)	7.00 (d, 7.4)
3'',5''			129.2 (d)	7.25 (t, 7.4)	129.0 (d)	7.16 (t, 7.4)
4''			126.8 (d)	7.17 (t, 7.4)	126.7 (d)	7.07 (t, 7.4)
7''			37.0 (d)	4.24 (m)	36.6 (d)	4.28 (m)
8''			38.8 (t)	2.05 (2H, m)	38.8 (t)	2.08 (2H, m)
9''			92.3 (d)	5.14 (dd, 8.1, 3.2)	92.3 (d)	5.09 (dd, 6.8, 4.3)
3-OCH ₃	50.8 (q)	3.06 (s)				

测该化合物可能为外消旋体。通过 Chiralpak® IA-3 手性柱 (150 mm × 4.6 mm, 3 μm) 拆分得到 2 个光学纯化合物 **1a** (正己烷-异丙醇 85:15, t_{R} = 15.9 min, 0.4 mg) 和化合物 **1b** (正己烷-异丙醇 85:15, t_{R} = 19.7 min, 0.3 mg)。为了确定它们的绝对构型, 分别建立 2*S*,3*S* 和 2*R*,3*R* 两种构型的模型, 通过 Conflex 程序在 MMFF94 力场下进行构象搜索, 分别获得它们的优势构象, 使用 SMD 模型, 以甲醇为溶剂, 经 b3lyp/6-31g(d) 水平优化, 再用 m062x/Def2-TZVP 方法进行计算, 得到 (2*S*,3*S*)-**1a** 和 (2*R*,3*R*)-**1b** 的理论 ECD 谱, 并与实测电子圆二色谱 (ECD) 比较 (图 2)。结果显示化合物 **1a** 对应的构型为 2*S*,3*S*, **1b** 对应的构型为 2*R*,3*R*。因此, 化合物 **1a** 和 **1b** 结构分别鉴定为 3-methoxyl-2*S*,3*S*-epoxyflavanone 和 3-methoxyl-2*R*,3*R*-epoxyflavanone。

化合物 **2**: 黄色固体, 易溶于甲醇, 紫外 254 nm 下观

察有暗斑, 浓硫酸-香兰素染色显红色。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -74.67 (c 0.10, MeOH); ECD (c 0.11, MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 194 (11.26), 209 (-2.79), 216 (-1.39), 233 (-5.83) nm; HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 421.129 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 421.129 3, $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_7$), 确定分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_7$, 不饱和度为 14。

^1H NMR 谱 (表 1) 在低场区显示有 9 个芳香氢信号, 其中 δ_{H} 6.44 (1H, d, J = 1.7 Hz), 6.44 (1H, d, J = 8.1 Hz), 5.97 (1H, dd, J = 8.1, 1.7 Hz) 为一组苯环 ABX 偶合系统质子信号, 表明有一个 1,3,4-三取代苯环; δ_{H} 7.25 (2H, t, J = 7.4 Hz), 7.17 (H, t, J = 7.4 Hz), 7.06 (2H, d, J = 7.4 Hz) 为一组单取代苯环质子信号; δ_{H} 6.02 (1H, s) 为一个五取代苯环质子信号。此外, 还有 3 个连氧次甲基氢信号 [δ_{H} 5.14 (1H, dd, J = 8.1, 3.2 Hz), 4.47 (1H, d, J = 7.8 Hz), 3.65 (1H, td, J = 7.8, 5.4 Hz)], 5 个烷基氢信号

**Figure 2** Experimental and calculated ECD spectra of compounds **1**–**3**

$[\delta_{\text{H}} 4.24 (1\text{H}, \text{m}), 2.84 (1\text{H}, J = \text{dd}, 16.2, 5.4 \text{ Hz}), 2.52 (1\text{H}, \text{dd}, J = 16.2, 8.5 \text{ Hz}), 2.05 (2\text{H}, \text{m})]$, 其中 $\delta_{\text{H}} 2.84, 2.52$ 为一组偕偶烷基氢信号。 ^{13}C NMR 给出 24 个碳信号, 结合 DEPT135 及 HSQC 谱图 (表 1), 分别归属为一个黄烷-3-醇母核结构^[19]和一个苯丙素母核结构^[20]。以上核磁数据与已知化合物 longifoin A^[21]平面结构的相一致, 进一步的 ^1H - ^1H COSY 和 HMBC 分析也验证了上述推断 (图 3)。

该化合物的相对构型可以通过 NOESY 谱的解析确定。H-2 与 H-4b ($\delta_{\text{H}} 2.52$), H-3 与 H-4a ($\delta_{\text{H}} 2.84$), H-5', H-6' 有明显的 NOE 相关信号, 以及 $J_{2,3} = 7.8 \text{ Hz}$, 证实 C-2,3 为 *trans* 构型, 推断 H-2 为 β 取向, H-3 为 α 取向; H-2' 与 H-2'', H-6'', 以及 H-9'' 与 H-2'', H-6'' 有 NOE 信号, 可以确定 H-7'' 为 β 取向, H-9'' 为 α 取向。

最后, 通过比较实验 ECD 和计算 ECD, 进一步验证了化合物 2 的绝对构型。结果显示化合物 2 的实测 ECD 与计算的 (2*R*,3*S*,7''*S*,9''*S*)-2a 谱一致 (图 2), 因此, 确定化合物 2 的绝对构型为 2*R*,3*S*,7''*S*,9''*S*。经 Sci-Finderⁿ 检索, 确定为新化合物, 命名为 longifoin B。

化合物 3: 黄色固体, 易溶于甲醇, 紫外 254 nm 下观察有暗斑, 浓硫酸-香兰素染色显红色。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -10.67$

(*c* 0.10, MeOH); ECD (*c* 0.11, MeOH) $\lambda_{\text{max}} (\Delta\epsilon) 191 (13.17), 213 (-5.42) \text{ nm}$; HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 $m/z 421.129 1 [M-H]^-$ (计算值 421.129 3, $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_7$), 确定分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{O}_7$, 不饱和度为 14。

化合物 3 与 2 的 1D NMR 数据基本一致, 进一步解析发现二者具有相同的平面结构, 不同在于 C-7'', C-9'' 绝对构型不同。在 NOESY 谱中, H-2 与 H-4b ($\delta_{\text{H}} 2.51$), H-3 与 H-4a ($\delta_{\text{H}} 2.85$), H-5', H-6' 有明显的相关信号, 推断 H-2 为 β 取向, H-3 为 α 取向; H-9'' 与 H-2'', H-6'', H-2 与 H-2'', H-6'' 有 NOE 信号, 可以确定 H-7'' 为 α 取向, H-9'' 为 β 取向。

通过对比实验 ECD 和计算 ECD, 结果显示化合物 3 的实测 ECD 与计算的 (2*R*,3*S*,7''*S*,9''*S*)-3a 谱一致 (图 2)。确定化合物 3 的绝对构型为 2*R*,3*S*,7''*S*,9''*S*, 经 Sci-Finderⁿ 检索, 确定为新化合物, 命名为 longifoin C。

2 Nrf2 激动活性

通过双荧光素酶报告基因实验测定 Nrf2 的激动活性, 以评估分离到的黄酮和鞣质类化合物对 Nrf2 转录表达的影响, 结果见图 4。结果显示, 化合物 4、6~10、12、14、17、19、20 和 22~24 在 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下均能促进荧光素酶 (luciferase, Luc) 表达, 与空白对照组

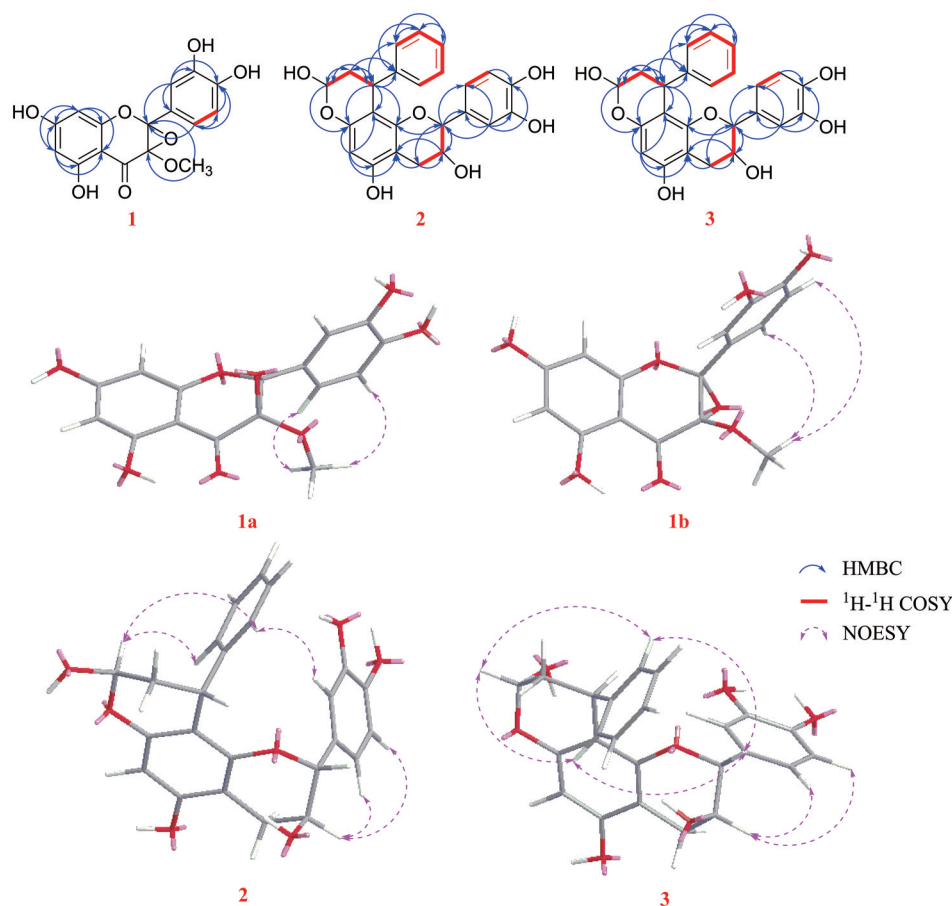


Figure 3 Key HMBC, ^1H - ^1H COSY, and NOESY correlations of compounds 1-3

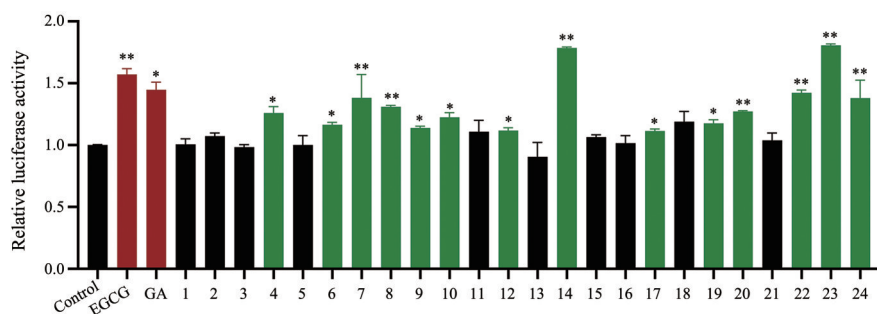


Figure 4 Relative luciferase activity in 293T cells treated with compounds 1–24 at 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. EGCG (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and GA (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) were used as positive control. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group. EGCG: (-)-epigallocatechin-3-gallate, GA: gallic acid

相比差异显著 ($P < 0.05$), 其中化合物 14 和 23 高于阳性药组。

实验部分

Bruker AV-600 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Agilent 6500 LC/Q-TOF 高分辨质谱仪、Agilent Zorbax SB-C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm \times 9.4 mm, 5 μm)、Agilent 1260 半制备高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); LC-20ADXR 高效液相 (日本 Shimadzu 公司), LCQ FLEET 离子阱电喷雾质谱 (美国 Thermo Scientific 公司); ZF-20D 暗箱式紫外分析仪 (上海宝山顾村光电仪器厂); SBS-100 数控计滴自动收集器 (上海沪西分析仪器有限公司); XSE105 电子天平 (瑞士 Mettler 公司); E20-02 旋转蒸发器 (德国 Heidolph Laborota 公司); YMC-Pack ODS-A C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm \times 10 mm, 5 μm)、ODS-AQ-HG (50 μm) 反相硅胶 (日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (瑞典 Pharmacia 公司); MCI gel CHP-20P (日本 Mitsubishi 公司); D101 型大孔树脂、色谱纯和分析纯试剂 (国药集团化学试剂有限公司); HSGF254 薄层色谱硅胶板、厚制备板 (烟台汇友硅胶有限公司); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300、300~400 目, 上海泰坦科技股份有限公司)。

HWS-24 型电热恒温水浴锅 (上海一恒科学仪器有限公司); CO₂ 恒温培养箱 (新加坡 ESCO 公司); 超净工作台 (Thermo Fisher Scientific); 离心机 (德国 Eppendorf 公司); DMi1 倒置显微镜 (德国 Leica 公司); Promega GloMax 20/20 2020 化学发光检测仪 (美国 Promega 公司); DMEM 培养基、胎牛血清、抗生素 (美国 Gibco 公司); DMSO (美国 Sigma-Aldrich 公司); (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯 (批号: 3722)、没食子酸 (批号: 12020) (上海诗丹德标准技术服务有限公司); 细胞培养皿、48 孔板、1.5 mL 离心管等购自美国 Corning 公司。

地榆饮片于 2019 年 8 月购自上海康桥中药饮片有限公司 (品名: 生地榆, 批号: 181227), 产地为吉林。样

品 (SDY181227) 存放于上海中医药大学中药学院中药化学教研室。

1 提取与分离

地榆饮片 (20 kg) 粉碎后用 10 倍量 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 合并提取液, 滤过, 减压浓缩至无醇味。浸膏加适量水分散稀释, 依次用等体积石油醚、乙酸乙酯萃取 3 次, 石油醚部位再用 80% 甲醇萃取 3 次, 合并、减压浓缩各萃取液, 得到石油醚部位 57 g, 乙酸乙酯部位 2 578 g, 80% 甲醇部位 37 g。乙酸乙酯萃取部位 (2 578 g) 经 D101 型大孔树脂柱色谱, 依次用水、20%、40%、60%、80%、95% 乙醇梯度洗脱, 浓缩, 干燥, 得水洗脱部位 766 g、20% 乙醇洗脱部位 978 g、40% 乙醇洗脱部位 365 g、60% 乙醇洗脱部位 668 g、80% 乙醇洗脱部位 235 g、95% 乙醇洗脱部位 10 g。

80% 乙醇洗脱部位 (235 g) 经 MCI 柱色谱分离, 以甲醇-水 (50:50~100:0) 梯度洗脱, 用 TLC 检测合并相同流分, 得到 11 个流分 Fr.1~11。Fr.4 (13.4 g) 通过 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (50:50~100:0) 梯度洗脱分成 11 个流分 Fr.4A~K。Fr.4E (37 mg) 经凝胶柱色谱以甲醇-水 (10:90~100:0) 梯度洗脱, 得到化合物 6 (3 mg)。Fr.6 (35.0 g) 通过硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (200:1~5:1) 梯度洗脱, 得到 11 个流分 Fr.6A~K。Fr.6A (101 mg) 经 ODS 柱色谱 [甲醇-水 (50:50~100:0 甲醇梯度洗脱)] 和凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 得到化合物 5 (34 mg)。Fr.6D (131 mg) 用甲醇重结晶得到化合物 24 (15 mg)。Fr.11 (2.6 g) 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (150:1~1:1) 梯度洗脱, 得到 6 个流分 Fr.11A~F。Fr.11A (120 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯 (10:1~6:1) 梯度洗脱得到 5 个流分 Fr.11Aa~e; Fr.11Ad (8 mg) 用凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 纯化得到化合物 7 (2 mg)。Fr.11B (162 mg) 用甲醇重结晶得到化合物 23 (42 mg)。

60% 乙醇洗脱部位 (668 g) 经硅胶柱色谱 (100 cm \times 11 cm) 分离, 以二氯甲烷-甲醇 (200:1~1:1) 梯度洗

脱, 得到10个流分Fr.1~10。Fr.2 (2.5 g) 经硅胶柱色谱二次分离, 用石油醚-乙酸乙酯 (10:1~4:1) 梯度洗脱得到9个流分Fr.2-1~9。Fr.2-9 (810 mg) 通过凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 得到化合物 **20** (657 mg)。Fr.2-3 (27 mg)、Fr.2-4 (29 mg) 均经半制备 HPLC (乙腈-水 43:57, 体积流量 3 mL·min⁻¹) 分别得到化合物 **21** (1 mg, $t_R = 9.75$ min)、**31** (2 mg, $t_R = 8.11$ min)。Fr.3 (1.8 g) 用甲醇重结晶得到化合物 **22** (206 mg)。滤液 Fr.3A (1.6 g) 经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (100:1~10:1) 梯度洗脱, 得到8个流分Fr.3A-1~8。Fr.3A-6 (347 mg) 经 MCI 柱色谱, 以甲醇-水 (30:70~100:0) 梯度洗脱, 得到3个流分Fr.3A-6-1~3; Fr.3A-6-1 (300 mg) 经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (30:70~100:0) 梯度洗脱, 得到3个流分Fr.3A-6-1-A~C; Fr.3A-6-1-A (290 mg) 经聚酰胺柱色谱, 以乙醇-水 (0:100~100:0) 梯度洗脱, 得到5个流分Fr.3A-6-1-Aa~e。Fr.3A-6-1-Ab (31 mg) 用半制备 HPLC [甲醇-水 (53:47), 体积流量 3 mL·min⁻¹] 分离得到化合物 **27** (4 mg, $t_R = 10.10$ min)、**28** (3 mg, $t_R = 14.62$ min)。Fr.3A-6-1-Ac (11 mg) 经半制备 HPLC [甲醇-水 (47:53), 体积流量 3 mL·min⁻¹] 分离得到化合物 **30** (2 mg, $t_R = 11.30$ min)。Fr.3A-6-1-Ad (107 mg) 经凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 得到 Fr.3A-6-1-Ad-1 (30 mg) 和化合物 **10** (76 mg)。将Fr.3A-6-1-Ae (38 mg) 和Fr.3A-6-1-Ad-1 合并经凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 得到7个流分Fr.3A-6-1-Ae-1~7, 其中Fr.3A-6-1-Ae-6 为化合物 **26** (3 mg), Fr.3A-6-1-Ae-7 为化合物 **25** (2 mg)。Fr.3A-6-1-Ae-3 (6 mg) 用半制备 HPLC [乙腈-水 (25:75), 体积流量 3 mL·min⁻¹] 分离得到化合物 **11** (1 mg, $t_R = 8.82$ min)、**15** (2 mg, $t_R = 11.07$ min)。Fr.4 (620 mg) 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (30:1~10:1) 梯度洗脱, 得到3个流分Fr.4A~C。Fr.4B (304 mg) 经凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 得到6个流分Fr.4B1~6, 其中Fr.4B6 为化合物 **13** (3 mg)。Fr.4B3 中有白色沉淀, 过滤, 滤液Fr.4B3b 经凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 得到化合物 **18** (9 mg)。Fr.4B4 经半制备 HPLC [甲醇-水 (55:45), 体积流量 3 mL·min⁻¹] 分离得到化合物 **4** (6 mg, $t_R = 12.38$ min)、**16** (4 mg, $t_R = 20.43$ min)。Fr.6 (3.675 g) 经硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (200:1~3:1) 梯度洗脱, 分成7个流分Fr.6A~G。Fr.6E (760 mg) 经凝胶柱色谱, 以甲醇-水 (20:80~100:0) 梯度洗脱, 得到5个流分Fr.6E1~5。Fr.6E4 (132 mg) 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (40:60~100:0) 梯度洗脱, 得到2个流分Fr.6E4a&b; Fr.6E4a (123 mg) 通过凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 得到化合物 **14** (5 mg)。Fr.6F (1.47 g) 经 MCI 柱色谱, 甲醇-水 (30:70~100:0) 梯度洗脱, 得到6个流分

Fr.6F1~6。Fr.6F1 (20 mg) 通过凝胶柱色谱 [甲醇-水 (90:10)] 纯化得到化合物 **9** (15 mg)。将Fr.7 (12.475 g) 经 ODS 柱色谱初步分离, 以甲醇-水 (30:70~100:0) 梯度洗脱得到17个流分Fr.7-1~17。Fr.7-1 (131 mg) 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (20:80~100:0) 梯度洗脱得到2个流分Fr.7-1A&B; Fr.7-1A (100 mg) 经凝胶柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 纯化得到化合物 **17** (50 mg)。Fr.7-3 (160 mg) 经凝胶柱色谱, 甲醇-水 (90:10) 洗脱得到4个流分Fr.7-3A~D, 其中Fr.7-3D 为化合物 **12** (72 mg); Fr.7-3C (31 mg) 经半制备 HPLC [乙腈-水 (35:65), 体积流量 3 mL·min⁻¹] 得到化合物 **1** (8 mg, $t_R = 10.04$ min)。Fr.7-4&5 (178 mg) 经凝胶柱色谱, 以甲醇-水 (80:20) 洗脱, 得到3个流分Fr.7-4&5A~C, Fr.7-4&5C 为化合物 **19** (75 mg); Fr.7-4&5B (24 mg) 经硅胶薄层制备板, 乙酸乙酯-甲醇-水-乙酸 (10:1:1:0.1) 展开, 刮取硅胶粉用二氯甲烷-甲醇 (10:1) 洗脱, 再经 ODS 柱色谱 [甲醇-水 (70:30)] 纯化, 得到化合物 **8** (10 mg)。Fr.7-6 (280 mg) 经凝胶柱色谱, 以甲醇-水 (70:30) 洗脱, 得到Fr.7-6A~C; Fr.7-6C (145 mg) 经半制备 HPLC [乙腈-水 (27:73), 体积流量 3 mL·min⁻¹] 得到化合物 **2** (12 mg, $t_R = 38.30$ min)、**3** (10 mg, $t_R = 39.48$ min)。Fr.7-9 经凝胶柱色谱, 甲醇-水 (70:30) 洗脱得到4个流分Fr.7-9A~D; Fr.7-9B (45 mg) 用甲醇重结晶得到化合物 **29** (10 mg)。

2 Nrf2 激动活性筛选

实验细胞株与药物: 293T 细胞为本课题组保存。地榆中分离得到的单体化合物用 DMSO 溶解, 配置成 25 mmol·L⁻¹ 的样品母液; 阳性药物为已报道具有明显 Nrf2 激动活性的 (-)-表没食子儿茶素没食子酸酯 ((-)-epigallocatechin-3-gallate, EGCG) 和没食子酸 (gallic acid, GA)。

实验方法: 将冻存于液氮罐中的 293T 细胞从冻存管中取出, 快速浸入 37 °C 水浴中融化, 然后用 75% 酒精消毒冻存管外壁, 将细胞转移至 1.5 mL 离心管中, 在 800 r·min⁻¹, 25 °C 条件下离心 4 min, 弃去上清液。加入 1 mL 完全培养基, 轻轻吹匀后接种于培养皿中, 置于 5% CO₂, 37 °C 细胞培养箱培养。然后, 取生长状态良好且长满培养皿 80% 左右的 293T 细胞, 吸走原培养基, PBS 缓冲液洗两次后, 用 0.25% 胰酶消化 2 min, 显微镜下观察到细胞皱缩变圆从壁上微微脱落后, 加入 3 mL 培养基终止消化, 吹打均匀后继续在 800 r·min⁻¹, 25 °C 条件下离心 4 min, 弃去上清液。培养基重悬后转移到新的培养皿, 置于 5% CO₂, 37 °C 细胞培养箱培养。

取对数生长的 293T 细胞 (1.5×10⁵/孔) 接种于 96 孔板, 培养于含有 10% 胎牛血清和 1% 抗生素的 DMEM 培养基中, 且置于恒温 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 12 h

后, 293T 细胞转染表达质粒 24 h, 转染体系为 3.2 μg Gal4-Nrf2-TK-rLUC, 3.2 μg the Gal4 reporter vector $9 \times \text{GAL4-UAS-promoter-fLuc}$ (Genechem, Shanghai), 0.3 μg Renilla reporter plasmids 和 6 μL FuGENE 转染试剂 (Roche, Switzerland)。随后加入阳性药物 (EGCG 和 GA, 浓度均为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 以及分离得到的单体化合物 (25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 同时设置空白对照组加入 1% DMSO, 在细胞培养箱中培养 24 h 后, 按照《双荧光素酶报告基因检测试剂盒》(Beyotime, RG027, Shanghai) 方法检测荧光素酶的活力。并进行 3 次重复实验验证。Nrf2 激动活性用“ $\text{RLU}_{\text{induced}}/\text{RLU}_{\text{uninduced}}$ ”的比值表示, 而所有相对荧光素酶活性 (relative luciferase, RLU) 均用“Firefly RLU/Renilla RLU”的比值表示。数据使用 GraphPad Prism 软件进行统计学分析, 计量资料采用均数 \pm 标准误差 (mean \pm SEM) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 则表示具有显著性差异。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色固体 (甲醇); HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 331.046 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 331.045 9, $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{O}_8$); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。化合物 1 为一对光学对映异构体, 分别命名为 3-methoxyl-2*S*,3*S*-epoxyflavanone (**1a**) 和 3-methoxyl-2*R*,3*R*-epoxyflavanone (**1b**)。

3-methoxyl-2*S*,3*S*-epoxyflavanone (**1a**): ECD (c 0.40, MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 201 (-7.04), 228 (1.74), 259 (-0.44), 301 (5.98) nm。

3-methoxyl-2*R*,3*R*-epoxyflavanone (**1b**): ECD (c 0.40, MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 201 (0.14), 217 (-0.38), 257 (0.16), 299 (-0.31) nm。

化合物 2 黄色固体 (甲醇); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -74.67 (c 0.10, MeOH); ECD (c 0.11, MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 194 (11.26), 209 (-2.79), 216 (-1.39), 233 (-5.83) nm; HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 421.129 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 421.129 3, $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_7$); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。鉴定化合物 2 为 longifoin B。

化合物 3 黄色固体 (甲醇); $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -10.67 (c 0.10, MeOH); ECD (c 0.11, MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$) 191 (13.17), 213 (-5.42) nm; HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 421.129 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 421.129 3, $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{O}_7$); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。鉴定化合物 3 为 longifoin C。

化合物 4 黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 289 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.92 (1H, s, H-2'), 6.79 (2H, s, H-5',6'), 5.88 (1H, d,

$J = 2.0$ Hz, H-8), 5.86 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.27 (1H, dd, $J = 12.8, 2.9$ Hz, H-2), 3.05 (1H, dd, $J = 17.1, 12.8$ Hz, H-3a), 2.69 (1H, dd, $J = 17.1, 2.9$ Hz, H-3b); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 80.4 (C-2), 44.1 (C-3), 197.5 (C-4), 165.4 (C-5), 97.3 (C-6), 169.3 (C-7), 96.5 (C-8), 164.8 (C-9), 103.1 (C-10), 131.8 (C-1'), 114.7 (C-2'), 146.5 (C-3'), 146.9 (C-4'), 116.2 (C-5'), 119.2 (C-6')。以上数据与文献^[22]报道基本一致, 故鉴定化合物 4 为圣草酚。

化合物 5 黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 273 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ_{H} 7.31 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2',6'), 6.79 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3',5'), 5.83 (2H, q, $J = 2.1$ Hz, H-6,8), 5.42 (1H, dd, $J = 12.8, 2.9$ Hz, H-2), 3.24 (1H, dd, $J = 17.1, 12.8$ Hz, H-3a), 2.66 (1H, dd, $J = 17.1, 3.0$ Hz, H-3b); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ_{C} 78.3 (C-2), 42.0 (C-3), 196.0 (C-4), 163.5 (C-5), 96.0 (C-6), 167.7 (C-7), 95.2 (C-8), 162.9 (C-9), 101.4 (C-10), 128.9 (C-1'), 128.3 (C-2'), 115.1 (C-3'), 157.7 (C-4'), 115.1 (C-5'), 128.3 (C-6')。以上数据与文献^[23]报道基本一致, 故鉴定化合物 5 为柚皮素。

化合物 6 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 257 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.73 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 7.32 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2',6'), 6.82 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3',5'), 6.50 (1H, dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, H-6), 6.36 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 5.38 (1H, dd, $J = 13.1, 2.9$ Hz, H-2), 3.05 (1H, dd, $J = 16.9, 13.1$ Hz, H-3a), 2.69 (1H, dd, $J = 16.9, 2.9$ Hz, H-3b); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 81.0 (C-2), 45.0 (C-3), 193.5 (C-4), 131.4 (C-5), 111.7 (C-6), 166.8 (C-7), 103.8 (C-8), 165.6 (C-9), 115.0 (C-10), 129.9 (C-1'), 129.0 (C-2',6'), 116.3 (C-3',5'), 159.0 (C-4')。以上数据与文献^[24]报道基本一致, 故鉴定化合物 6 为甘草素。

化合物 7 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 317 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.08 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 6.93 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.07 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 6.05 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 5.38 (1H, dd, $J = 13.1, 2.9$ Hz, H-2), 3.88 (3H, s, 7-OCH₃), 3.81 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.18 (1H, dd, $J = 17.2, 13.1$ Hz, H-3a), 2.75 (1H, dd, $J = 17.2, 2.9$ Hz, H-3b); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 80.7 (C-2), 44.2 (C-3), 198.3 (C-4), 165.3 (C-5), 95.8 (C-6), 169.5 (C-7), 95.0 (C-8), 164.7 (C-9), 104.1 (C-10), 131.6 (C-1'), 111.3 (C-2'), 148.2 (C-3'), 149.1 (C-4'), 116.1 (C-5'), 120.6 (C-6'), 56.5 (7-OCH₃),

56.3 (4'-OCH₃)。以上数据与文献^[25]报道基本一致,故鉴定化合物**7**为5,3'-二羟基-7,4'-二甲氧基二氢黄酮。

化合物**8** 淡黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 435 [M+H]⁺,分子式为C₂₁H₂₂O₁₀。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_{H} 7.32 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2',6'), 6.82 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3',5'), 6.21 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 5.38 (1H, dt, $J=13.0, 3.2$ Hz, H-2), 4.98 (1H, t, $J=6.8$ Hz, H-1''), 3.88 (1H, d, $J=11.9$ Hz, H-6a''), 3.69 (1H, dt, $J=11.9, 5.1$ Hz, H-6b''), 3.45 (3H, m, H-2'',3'',5''), 3.39 (1H, dt, $J=9.4, 2.4$ Hz, H-4''), 3.17 (1H, dd, $J=17.2, 13.0$ Hz, H-3a), 2.75 (1H, dt, $J=17.2, 3.2$ Hz, H-3b); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_{C} 80.6 (C-2), 44.2 (C-3), 198.6 (C-4), 165.0 (C-5), 98.0 (C-6), 167.0 (C-7), 96.9 (C-8), 164.6 (C-9), 104.9 (C-10), 130.8 (C-1'), 129.1 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 159.1 (C-4'), 101.2 (C-1''), 74.6 (C-2''), 77.8 (C-3''), 71.2 (C-4''), 78.2 (C-5''), 62.3 (C-6'')。以上数据与文献^[26]报道基本一致,故鉴定化合物**8**为柚皮素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物**9** 黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 305 [M+H]⁺,分子式为C₁₅H₁₂O₇。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 6.97 (1H, br s, H-2'), 6.85 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-6'), 6.81 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 5.92 (1H, s, H-8), 5.88 (1H, s, H-6), 4.91 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-2), 4.50 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-3); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 85.0 (C-2), 73.6 (C-3), 198.3 (C-4), 165.2 (C-5), 97.3 (C-6), 168.7 (C-7), 96.3 (C-8), 164.4 (C-9), 101.8 (C-10), 129.8 (C-1'), 116.1 (C-2'), 146.2 (C-3'), 147.1 (C-4'), 115.9 (C-5'), 120.9 (C-6')。以上数据与文献^[27]报道基本一致,故鉴定化合物**9**为二氢槲皮素。

化合物**10** 黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 287 [M-H]⁻,分子式为C₁₅H₁₂O₆。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_{H} 7.35 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2',6'), 6.83 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3',5'), 5.93 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 5.88 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 4.98 (1H, d, $J=11.6$ Hz, H-2), 4.54 (1H, d, $J=11.6$ Hz, H-3); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ_{C} 85.0 (C-2), 73.6 (C-3), 198.5 (C-4), 165.3 (C-5), 97.3 (C-6), 168.8 (C-7), 96.3 (C-8), 164.5 (C-9), 101.8 (C-10), 129.3 (C-1'), 130.4 (C-2',6'), 116.1 (C-3', 5'), 159.2 (C-4')。以上数据与文献^[28]报道基本一致,故鉴定化合物**10**为二氢山柰酚。

化合物**11** 淡黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 273 [M+H]⁺,分子式为C₁₅H₁₂O₅。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_{H} 7.70 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-5), 7.37 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2',6'), 6.83 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3',5'), 6.50 (1H, dd, $J=8.7, 2.2$ Hz, H-6), 6.28 (1H, d, $J=2.2$ Hz,

H-8), 4.98 (1H, d, $J=11.8$ Hz, H-2), 4.50 (1H, d, $J=11.8$ Hz, H-3); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ_{C} 74.5 (C-2), 85.4 (C-3), 194.3 (C-4), 130.0 (C-5), 112.6 (C-6), 167.0 (C-7), 104.0 (C-8), 165.3 (C-9), 113.0 (C-10), 129.6 (C-1'), 130.4 (C-2', 6'), 116.1 (C-3', 5'), 159.1 (C-4')。以上数据与文献^[29]报道基本一致,故鉴定化合物**11**为(-)-garbanzol。

化合物**12** 黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 319 [M+H]⁺,分子式为C₁₆H₁₄O。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_{H} 6.97 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.85 (1H, dd, $J=8.1, 2.0$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 5.91 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 5.87 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 4.90 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-2), 4.50 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-3), 3.35 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_{C} 73.6 (C-2), 85.1 (C-3), 198.2 (C-4), 165.2 (C-5), 97.4 (C-6), 169.1 (C-7), 96.4 (C-8), 164.4 (C-9), 101.7 (C-10), 129.9 (C-1'), 115.9 (C-2'), 147.1 (C-3'), 146.3 (C-4'), 116.1 (C-5'), 120.9 (C-6'), 49.8 (3-OCH₃)。以上数据与文献^[30]报道基本一致,故鉴定化合物**12**为(2*R*,3*R*)-4-methoxyl-distylin。

化合物**13** 黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 287 [M+H]⁺,分子式为C₁₅H₁₀O₆。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_{H} 8.09 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2',6'), 6.91 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3',5'), 6.40 (1H, s, H-8), 6.18 (1H, s, H-6); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_{C} 148.1 (C-2), 137.1 (C-3), 177.4 (C-4), 162.5 (C-5), 99.3 (C-6), 165.7 (C-7), 94.5 (C-8), 158.3 (C-9), 104.5 (C-10), 123.7 (C-1'), 130.7 (C-2',6'), 116.3 (C-3',5'), 160.6 (C-4')。以上数据与文献^[31]报道基本一致,故鉴定化合物**13**为山柰酚。

化合物**14** 黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 303 [M+H]⁺,分子式为C₁₅H₁₀O₇。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.74 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 7.64 (1H, dd, $J=8.5, 1.8$ Hz, H-6'), 6.89 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, s, H-8), 6.18 (1H, s, H-6); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 148.8 (C-2), 137.2 (C-3), 177.3 (C-4), 162.5 (C-5), 99.2 (C-6), 165.6 (C-7), 94.4 (C-8), 158.2 (C-9), 104.5 (C-10), 124.2 (C-1'), 116.2 (C-2'), 146.2 (C-3'), 148.0 (C-4'), 116.0 (C-5'), 121.7 (C-6')。以上数据与文献^[32]报道基本一致,故鉴定化合物**14**为槲皮素。

化合物**15** 淡黄色固体(甲醇);ESI-MS m/z 275 [M+H]⁺,分子式为C₁₅H₁₄O₅。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_{H} 7.65 (1H, d, $J=9.0$ Hz, H-6'), 7.02 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2,6), 6.67 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3,5), 6.31 (1H, dd, $J=9.0, 2.3$ Hz, H-5'), 6.23 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3'), 5.13 (1H, dd, $J=7.6, 4.8$ Hz, H- α), 3.02 (1H, dd, $J=14.0, 4.8$ Hz,

H- β a), 2.83 (1H, dd, $J = 14.0, 7.6$ Hz, H- β b); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_{C} 74.2 (C- α), 42.3 (C- β), 129.4 (C-1), 131.5 (C-2,6), 116.0 (C-3,5), 157.1 (C-4), 111.4 (C-1'), 165.3 (C-2'), 104.0 (C-3'), 167.0 (C-4'), 110.3 (C-5'), 133.4 (C-6'), 204.3 (C=O)。以上数据与文献^[33]报道基本一致, 故鉴定化合物 **15** 为 $\alpha,4,2',4'$ -tetrahydroxydihydrochalcone。

化合物 **16** 红棕色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 275 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.04 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2,6), 6.69 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3,5), 5.80 (2H, s, H-3',5'), 3.27 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, COCH_2CH_2), 2.85 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, COCH_2CH_2); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 134.0 (C-1), 130.3 (C-2,6), 116.1 (C-3,5), 156.5 (C-4), 105.3 (C-1'), 165.8 (C-2',6'), 96.4 (C-3',5'), 166.4 (C-4'), 206.3 (C-CO), 47.3 (C- α), 31.5 (C- β)。以上数据与文献^[34]报道基本一致, 故鉴定化合物 **16** 为 phloretin。

化合物 **17** 橙红色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 291 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.86 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.79 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.74 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-6'), 5.95 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 4.59 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2), 4.00 (1H, td, $J = 8.0, 5.4$ Hz, H-3), 2.87 (1H, dd, $J = 16.1, 5.4$ Hz, H-4a), 2.53 (1H, dd, $J = 16.1, 8.0$ Hz, H-4b); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 82.8 (C-2), 68.8 (C-3), 28.5 (C-4), 157.5 (C-5), 96.3 (C-6), 156.9 (C-7), 95.5 (C-8), 157.8 (C-9), 100.8 (C-10), 132.2 (C-1'), 115.2 (C-2'), 146.2 (C-3'), 146.2 (C-4'), 116.1 (C-5'), 120.0 (C-6')。以上数据与文献^[35]报道基本一致, 故鉴定化合物 **17** 为 (+)-儿茶素。

化合物 **18** 黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 363 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_8$ 。该化合物的核磁数据与已报道的 rosacatechin A^[36]、(+)-8-methoxycarbonylcatechin^[37] 基本一致, 不同之处在于 C-8 位取代基的碳链长度, 经 HSQC、HMBC 信号分析, 确定 C-8 位为乙酰基取代, 最终确定该化合物为 ethyl (+)-cyanidan-3-ol-8-carboxylate。通过 SciFinder 检索该化合物发现为已知天然产物, 且已有 3 篇文献^[38-40]报道该化合物, 但均未记载相关核磁数据, 遂本文特做补充。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.79 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.68 (1H, dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, H-6'), 5.96 (1H, s, H-6), 4.75 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-2), 4.53 (2H, q, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 4.03 (1H, q, $J = 7.0$ Hz, H-3), 2.80 (1H, dd, $J = 16.3, 5.0$ Hz, H-4a), 2.55 (1H, dd, $J = 16.3, 7.5$ Hz, H-4b), 1.43 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-3''); ^{13}C NMR (150 MHz,

CD_3OD): δ_{C} 83.3 (C-2), 68.0 (C-3), 27.3 (C-4), 161.3 (C-5), 96.5 (C-6), 161.6 (C-7), 95.0 (C-8), 162.2 (C-9), 101.4 (C-10), 131.4 (C-1'), 114.9 (C-2'), 146.4 (C-3'), 146.4 (C-4'), 116.2 (C-5'), 119.6 (C-6'), 171.3 (C-CO), 63.2 (C-2''), 14.6 (C-3'')。鉴定化合物 **18** 为 ethyl (+)-cyanidan-3-ol-8-carboxylate。

化合物 **19** 黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 343 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 8.01 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-11), 6.84 (1H, br s, H-2'), 6.78 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6'), 6.72 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.33 (1H, s, H-6), 6.03 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-12), 4.83 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-2), 4.10 (1H, q, $J = 7.0$ Hz, H-3), 2.88 (1H, dd, $J = 16.6, 5.1$ Hz, H-4a), 2.63 (1H, dd, $J = 16.6, 7.5$ Hz, H-4b); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 83.3 (C-2), 67.8 (C-3), 27.8 (C-4), 161.6 (C-5), 95.4 (C-6), 156.0 (C-7), 106.0 (C-8), 152.8 (C-9), 103.4 (C-10), 141.0 (C-11), 110.0 (C-12), 164.2 (C-13), 131.2 (C-1'), 114.9 (C-2'), 146.5 (C-3'), 146.4 (C-4'), 116.3 (C-5'), 119.7 (C-6')。以上数据与文献^[41]报道基本一致, 故鉴定化合物 **19** 为 phyllocoumarin。

化合物 **20** 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 197 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.17 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 7.16 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6), 3.87 (3H, s, 7-OCH₃), 3.84 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ_{C} 121.4 (C-1), 106.0 (C-2), 149.1 (C-3), 140.6 (C-4), 146.3 (C-5), 111.9 (C-6), 168.8 (C-7), 52.4 (3-OCH₃), 56.7 (7-OCH₃)。以上数据与文献^[42]报道基本一致, 故鉴定化合物 **20** 为 methyl 3-methoxy-4,5-dihydroxybenzoate。

化合物 **21** 淡黄色油状 (甲醇); ESI-MS m/z 213 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.16 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.87 (3H, s, 4-OCH₃), 3.86 (3H, s, 5-OCH₃), 3.84 (3H, s, COOCH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_{C} 126.5 (C-1), 112.1 (C-2), 151.9 (C-3), 142.2 (C-4), 154.4 (C-5), 105.8 (C-6), 168.4 (C-7), 61.0 (4-OCH₃), 56.5 (5-OCH₃), 52.6 (7-OCH₃)。以上数据与文献^[43]报道基本一致, 故鉴定化合物 **21** 为 4,5-dimethoxy-3-hydroxybenzoic acid methyl ester。

化合物 **22** 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 331 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_8$ 。 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ_{H} 7.50 (1H, s, H-5), 7.49 (1H, s, H-5'), 4.04 (3H, s, 3-OCH₃), 3.97 (3H, s, 4'-OCH₃); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ_{C} 111.5 (C-1), 141.6 (C-2), 140.0 (C-3), 152.5 (C-4), 111.3 (C-5), 112.7 (C-6), 158.6 (C-7), 106.9 (C-1'),

140.5 (C-2'), 135.6 (C-3'), 149.8 (C-4'), 106.7 (C-5'), 113.6 (C-6'), 158.7 (C-7'), 60.9 (3-OCH₃), 56.6 (4'-OCH₃)。以上数据与文献^[44]报道基本一致, 故鉴定化合物 **22** 为 3,4'-di-*O*-methylelagic acid。

化合物 **23** 白色固体 (甲醇), 易溶于 DMF, DMSO 微溶; ESI-MS m/z 345 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₇H₁₂O₈。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ_H 10.83 (1H, s, 4'-OH), 7.63 (1H, s, 5'-ArH), 7.54 (1H, s, 5-ArH), 4.06 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.04 (3H, s, 3-OCH₃), 4.00 (3H, s, 4-OCH₃); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): δ_C 112.5 (C-1), 141.5 (C-2), 140.9 (C-3), 152.6 (C-4), 107.5 (C-5), 113.4 (C-6), 158.5 (C-7), 111.2 (C-1'), 141.0 (C-2'), 140.2 (C-3'), 153.8 (C-4'), 111.7 (C-5'), 112.0 (C-6'), 158.3 (C-7'), 61.3 (C-3-OCH₃), 56.7 (C-4-OCH₃), 61.0 (C-3'-OCH₃)。以上数据与文献^[45]报道基本一致, 故鉴定化合物 **23** 为 3,4,3'-三甲基逆没食子酸。

化合物 **24** 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 477 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₀O₁₂。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ_H 7.78 (1H, s, H-5), 7.65 (1H, s, H-5'), 5.19 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, xyl-1), 4.09 (3H, s, OCH₃-3), 4.05 (3H, s, OCH₃-3'), 4.01 (3H, s, OCH₃-4'), 3.83 (1H, dd, $J = 10.2, 4.4$ Hz, xyl-5a), 3.46~3.35 (4H, m, xyl-2,3,4,5b); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): δ_C 113.8 (C-1), 141.9 (C-2), 141.2 (C-3), 154.4 (C-4), 112.0 (C-5), 112.7 (C-6), 158.4 (C-7), 112.9 (C-1'), 141.2 (C-2'), 140.9 (C-3'), 151.6 (C-4'), 107.6 (C-5'), 112.3 (C-6'), 158.2 (C-7'), 61.7 (OCH₃-3), 61.3 (OCH₃-3'), 56.8 (OCH₃-4'), 101.7 (xyl-1), 73.0 (xyl-2), 76.1 (xyl-3), 69.2 (xyl-4), 65.8 (xyl-5)。以上数据与文献^[44]报道基本一致, 故鉴定化合物 **24** 为 3,3',4'-*O*-trimethylelagic acid-4-*O*-β-*D*-xyloside。

化合物 **25** 淡黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 273 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₂O₅。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H 7.32 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2',6'), 6.82 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3',5'), 6.27 (1H, br s, H-5), 6.23 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7), 5.49 (1H, dd, $J = 12.2, 3.0$ Hz, H-3), 3.26 (1H, dd, $J = 16.4, 12.2$ Hz, H-4a), 3.02 (1H, dd, $J = 16.4, 3.0$ Hz, H-4b); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_C 171.8 (C-1), 82.1 (C-3), 35.9 (C-4), 143.7 (C-4a), 108.0 (C-5), 166.5 (C-6), 102.3 (C-7), 165.7 (C-8), 101.6 (C-8a), 130.8 (C-1'), 129.0 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 159.1 (C-4')。以上数据与文献^[46]报道基本一致, 故鉴定化合物 **25** 为 (3*R*)-thunberginol C。

化合物 **26** 淡黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 229 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₄H₁₂O₃。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H 7.35 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2',6'), 6.95 (1H, d, $J =$

16.3 Hz, H-a), 6.80 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H-b), 6.76 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3',5'), 6.44 (2H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2,6), 6.16 (1H, t, $J = 2.1$ Hz, H-4); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_C 141.3 (C-1), 105.8 (C-2,6), 159.7 (C-3,5), 102.7 (C-4), 130.4 (C-1'), 129.4 (C-2',6'), 116.5 (C-3',5'), 158.4 (C-4'), 127.0 (C-a), 128.8 (C-b)。以上数据与文献^[47]报道基本一致, 故鉴定化合物 **26** 为 resveratrol。

化合物 **27** 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 373 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₀H₂₂O₇。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H 7.07 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2''), 7.03 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.91 (1H, dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, H-6'), 6.86 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-6''), 6.78 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5''), 6.77 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 4.65 (1H, s, H-2), 4.43 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-6), 4.07 (1H, dd, $J = 9.6, 6.3$ Hz, H-8a), 4.02 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-8b), 3.87 (3H, s, 3''-OCH₃), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.60 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-4a), 3.41 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-4b), 2.63 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-5); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ_C 94.2 (C-1), 87.2 (C-2), 77.2 (C-4), 64.0 (C-5), 90.5 (C-6), 70.5 (C-8), 130.2 (C-1'), 110.1 (C-2'), 148.7 (C-3'), 147.0 (C-4'), 115.9 (C-5'), 119.0 (C-6'), 133.4 (C-1''), 111.1 (C-2''), 149.2 (C-3''), 147.6 (C-4''), 115.9 (C-5''), 120.5 (C-6''), 56.4 (3''-OCH₃), 56.4 (3'-OCH₃)。以上数据与文献^[48]报道基本一致, 故鉴定化合物 **27** 为 1-hydroxypin-oresinol。

化合物 **28** 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 345 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₉H₂₂O₆。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H 7.00 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.89 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, H-6), 6.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.84 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.75 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.70 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6'), 4.87 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-7), 4.01 (1H, ddd, $J = 8.1, 4.6, 2.5$ Hz, H-8), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 3.67 (1H, dd, $J = 12.3, 2.5$ Hz, H-9a), 3.55 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-9'), 3.47 (1H, dd, $J = 12.3, 4.6$ Hz, H-9b), 2.58 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-7'), 1.80 (2H, m, H-8'); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ_C 129.7 (C-1), 112.0 (C-2), 149.2 (C-3), 148.3 (C-4), 116.2 (C-5), 121.7 (C-6), 77.7 (C-7), 79.8 (C-8), 62.2 (C-9), 136.5 (C-1'), 117.7 (C-2'), 145.1 (C-3'), 143.0 (C-4'), 117.7 (C-5'), 122.4 (C-6'), 32.4 (C-7'), 35.6 (C-8'), 62.2 (C-9'), 56.4 (3-OCH₃)。以上数据与文献^[49]报道基本一致, 故鉴定化合物 **28** 为 (7*S*,8*S*)-3-methoxy-3',7-epoxy-8,4'-oxyneoligna-4,9,9'-triol。

化合物 **29** 黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 455 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₁H₂₀O₁₀。¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ_H 13.18 (1H, s, 1-OH), 7.45 (1H, s, H-4), 7.28 (1H,

d, $J = 2.2$ Hz, H-5), 7.15 (1H, s, H-2), 6.99 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-7), 5.05 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, Glc-H-1'), 3.71 (1H, m, Glc-H-5'), 3.52 (1H, m, Glc-H-6'a), 3.43 (1H, m, Glc-H-2'), 3.39 (1H, m, Glc-H-6'b), 3.37 (1H, m, Glc-H-3'), 3.23 (1H, m, Glc-H-4'), 2.40 (3H, s, 3-CH₃); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): δ_c 164.3 (C-1), 119.2 (C-2), 146.9 (C-3), 124.2 (C-4), 108.3 (C-5), 161.1 (C-6), 108.4 (C-7), 161.7 (C-8), 186.4 (C-9), 182.1 (C-10), 132.1 (C-4a), 113.2 (C-8a), 114.5 (C-9a), 136.5 (C-10a), 21.4 (3-CH₃), 100.8 (Glc-1'), 73.3 (Glc-2'), 77.3 (Glc-3'), 69.4 (Glc-4'), 76.4 (Glc-5'), 60.6 (Glc-6'). 以上数据与文献^[50]报道基本一致, 故鉴定化合物 **29** 为大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **30** 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 169 [M+H]⁺, 分子式为 C₈H₈O₄。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H 5.79 (2H, s, H-3,5), 2.60 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ_c 105.6 (C-1), 166.0 (C-2,6), 95.7 (C-3,5), 166.7 (C-4), 204.5 (COCH₃), 32.7 (COCH₃)。以上数据与文献^[51]报道基本一致, 故鉴定化合物 **30** 为 phloracetophenone。

化合物 **31** 白色固体 (甲醇); ESI-MS m/z 351 [2M+Na]⁺, 分子式为 C₁₀H₁₂O₂。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD): δ_H 7.00 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2',6'), 6.68 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3',5'), 2.75 (4H, m, 2H-3, 2H-4), 2.11 (3H, s, COCH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD): δ_c 30.0 (C-1), 211.4 (C-2), 46.3 (C-3), 30.0 (C-4), 133.2 (C-1'), 130.2 (C-2',6'), 116.2 (C-3',5'), 156.7 (C-4')。以上数据与文献^[52]报道基本一致, 故鉴定化合物 **31** 为 4-(4'-hydroxyphenyl)-butan-2-one。

作者贡献: 吴龙龙是本文的第一作者, 负责成分分离、结构鉴定和论文撰写; 刘静雯参与 Nrf2 激动活性测定; 余钟莲参与化学成分分离; 张刘强与李医明是本文的通讯作者, 设计和组织了整个实验, 并对课题进行指导和管理, 以及负责修改稿件。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Vol I. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 130-131.
- [2] Sun XY. Shennong's Classic of Material Medical (神农本草经) [M]. Beijing: The Commercial Press, 1955: 94.
- [3] Wu LL, Xu HY, Zhang LQ, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Sanguisorba officinalis* [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med (世界科学技术-中医药现代化), 2022, 24: 360-378.
- [4] Jang E, Inn KS, Jang YP, et al. Phytotherapeutic activities of *Sanguisorba officinalis* and its chemical constituents: a review [J]. Am J Chin Med, 2018, 46: 299-318.
- [5] Zhao Z, He X, Zhang Q, et al. Traditional uses, chemical constituents and biological activities of plants from the Genus *Sanguisorba* L. [J]. Am J Chin Med, 2017, 45: 199-224.
- [6] Zhang DD, Chapman E. The role of natural products in revealing Nrf2 function [J]. Nat Prod Rep, 2020, 37: 797-826.
- [7] Tonelli C, Chio IIC, Tuveson DA. Transcriptional regulation by Nrf2 [J]. Antioxid Redox Signal, 2018, 29: 1727-1745.
- [8] He F, Ru X, Wen T. Nrf2, a transcription factor for stress response and beyond [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21: 4777.
- [9] Li XH, Tang NF, Li YQ, et al. Cytoprotective effect of p62/Nrf2 signaling pathway [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2018, 53: 1995-2005.
- [10] Xu T, Liu R, Zhu H, et al. The inhibition of LPS-induced oxidative stress and inflammatory responses is associated with the protective effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on bovine hepatocytes and murine liver [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11: 914.
- [11] Wang Y, Wu J, Wang L, et al. Epigallocatechin gallate and glutathione attenuate aflatoxin B1-induced acute liver injury in ducklings via mitochondria-mediated apoptosis and the Nrf2 signalling pathway [J]. Toxins (Basel), 2022, 14: 876.
- [12] Zhou Y, Jin H, Wu Y, et al. Gallic acid protects against ethanol-induced hepatocyte necroptosis via an Nrf2-dependent mechanism [J]. Toxicol In Vitro, 2019, 57: 226-232.
- [13] Ye SF, Hou ZQ, Zhong LM, et al. Effect of curcumin on the induction of glutathione S-transferases and NADP(H): quinone oxidoreductase and its possible mechanism of action [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2007: 376-380.
- [14] Feng J, Huang X, Li HY, et al. Mechanism of resveratrol inhibiting monosodium urate induced oxidative damage of RAW264.7 macrophages [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2020, 55: 2368-2374.
- [15] Wang HP, Cao F, Yang XW. Chemical constituents in aerial parts of *Polygonum capitatum* [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 2013, 44: 24-30.
- [16] Jia C, Sun X, Zhang X, et al. Baeckeins L and M, two novel C-methylated trflavonoids from the roots of *Baeckea frutescens* L. [J]. Nat Prod Res, 2019, 34: 278-283.
- [17] Jia B, Ren F, Jia L, et al. Baeckein E, a new bioactive C-methylated biflavonoid from the roots of *Baeckea frutescens* [J]. Nat Prod Res, 2013, 27: 2069-2075.
- [18] Jia B, Zhou Y, Chen X, et al. Structure determination of baeckeins C and D from the roots of *Baeckea frutescens* [J]. Magn Reson Chem, 2011, 49: 757-761.
- [19] He XF, Chen JJ, Li TZ, et al. Nineteen new flavanol-fatty alcohol hybrids with alpha-glucosidase and PTP1B dual inhibition: one unusual type of antidiabetic constituent from *Amomum tsao-ko* [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68: 11434-11448.
- [20] Wei F, Deng JT, Cheng HT, et al. A pair of new phenylpropanoid enantiomers from *Cordia dichotoma* fruits [J]. Acta Pharm Sin

- (药学报), 2022, 57: 1863-1867.
- [21] Wang M, Ma AQ, Lu YA, et al. A flavan-3-ol phenylpropecyte hybrid, its preparation method and application: CN, 113024575 A [P]. 2021-06-25.
- [22] Zhou L, Li D, Wang J, et al. Antibacterial phenolic compounds from the spines of *Gleditsia sinensis* Lam [J]. Nat Prod Res, 2007, 21: 283-291.
- [23] Ghribia L, Ghouila H, Omrib A, et al. Antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of extracts and secondary metabolites from *Acacia cyanophylla* [J]. Asian Pac J Trop Biomed, 2014, 4: S417-S423.
- [24] Li B, Zhang Y, Du WP, et al. Chemical constituents from shoot of *Phyllostachys edulis* (II) [J]. J Chin Med Mater (中草药), 2015, 38: 2535-2537.
- [25] Fu XY, Tian JM. Chemical constituents from *Dianthus superbus* [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 2015, 46: 645-648.
- [26] Rayyan S, Fossen T, Solheim NH, et al. Isolation and identification of flavonoids, including flavone rotamers, from the herbal drug 'Crataegi Folium Cum Flore' (hawthorn) [J]. Phytochem Anal, 2005, 16: 334-341.
- [27] Joo S, Park H, Park J, et al. Flavonoids from *Machilus japonica* stems and their inhibitory effects on LDL oxidation [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15: 16418-16429.
- [28] Jin HZ, Chen G, Li XF, et al. Flavonoids from *Rhododendron decorum* [J]. Chem Nat Compd, 2009, 45: 85-86.
- [29] Hashida K, Tabata M, Kuroda K, et al. Phenolic extractives in the trunk of *Toxicodendron vernicifluum*: chemical characteristics, contents and radial distribution [J]. J Wood Sci, 2014, 60: 160-168.
- [30] Duan WJ, Jiang Y, Jin X, et al. Chemical constituents of *Paeonia albiflora* [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2009, 19: 55-58.
- [31] Li Y, Li J, Wang N, et al. Flavonoids and a new polyacetylene from *Bidens parviflora* Willd [J]. Molecules, 2008, 13: 1931-1941.
- [32] Li YL, Li KM, Su MX, et al. Studies on antiviral constituents in stems and leaves of *Pithecellobium clypearia* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006: 397-400.
- [33] Kulesh NI, Vasilevskaya NA, Veselova MV, et al. Minor polyphenols from *Maackia amurensis* wood [J]. Chem Nat Compd, 2008, 44: 712-714.
- [34] Fletcher MT, Lowe LM, Kitching W, et al. Chemistry of Leichhardt's grasshopper, *Petasida ephippigera*, and its host plants, *Pityrodia jamesii*, *P. ternifolia*, and *P. pungens* [J]. J Chem Ecol, 2000, 26: 2275-2290.
- [35] Liu ZH, Wang JL, Zhao M, et al. Chemical constituents from aerial part of *Cannabis sativa* [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 2021, 52: 4463-4472.
- [36] 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.
- [37] Ballenegger ME, Rimbault CG, Albert AI, et al. Pharmaceutical preparations containing (+)-cyanidan-3-ol derivatives, the use thereof, novel substituted (+)-cyanidan-3-ol derivatives, and processes for producing them: EP, 0096007 A2 [P]. 1983-12-07.
- [38] Huang SZ, Luo HR, Ma QY, et al. Chemical constituents from the stems of *Excoecaria acertifolia* [J]. Chem Biodivers, 2014, 11: 1406-1416.
- [39] Yang X, Li S, Feng L, et al. Abiesanol A, a novel biflavanol with unique six connective hexacyclic rings isolated from *Abies georgei* [J]. Tetrahedron Lett, 2008, 49: 3042-3044.
- [40] Nyon PC, Prangins AW, Avully AA. Use of *O*-substituted derivatives of (+)-cyanidan-3-ol as compounds having immunomodulating properties: US, 4634718 A [P]. 1987-01-06.
- [41] Foo LY. Flavanocoumarins and flavanophenylpropanoids from *Phyllocladus trichomanoides* [J]. Phytochemistry, 1989, 28: 2477-2481.
- [42] Su XD, Ali I, Arooj M, et al. Chemical constituents from *Sanguisorba officinalis* L. and their inhibitory effects on LPS-stimulated pro-inflammatory cytokine production in bone marrow-derived dendritic cells [J]. Arch Pharm Res, 2018, 41: 497-505.
- [43] Harkat H, Haba H, Marcourt L, et al. An unusual lignan sulfate and aromatic compounds from *Frankenia thymifolia* Desf. [J]. Biochem Syst Ecol, 2007, 35: 176-179.
- [44] Zhang F, Fu TJ, Peng SL, et al. Two new triterpenoids from the roots of *Sanguisorba officinalis* L. [J]. J Integr Plant Biol, 2005, 47: 251-256.
- [45] Wardana AP, Abdjan MI, Aminah NS, et al. 3,4,3'-Tri-*O*-methyl ellagic acid as an anticancer agent: *in vitro* and *in silico* studies [J]. RSC Adv, 2022, 12: 29884-29891.
- [46] Park S, Kim YN, Kwak HJ, et al. Estrogenic activity of constituents from the rhizomes of *Rheum undulatum* Linné [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28: 552-557.
- [47] Wang L, Zhao Y, Hu JM, et al. Stilbene Derivatives from *Gnetum montanum* Markgr. f. *megalocarpum* Markgr. [J]. Helv Chim Acta, 2008, 91: 159-164.
- [48] Lei JP, Yuan JJ, Pi SH, et al. Flavones and lignans from the stems of *Wikstroemia scytophylla* Diels [J]. Pharmacogn Mag, 2017, 13: 488-491.
- [49] Chang B, Xiao LJ, Zhang J, et al. Chemical constituents from *Abies ernestii* var. *salouenensis* [J]. J Chin Pharm Univ (中国药科大学学报), 2014, 45: 43-47.
- [50] Shen LL, Lu Y, Cheng ZH, et al. Anti-complementary anthraquinones from *Polygonum cuspidatum* and their action targets [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 2013, 44: 2502-2507.
- [51] Chosson E, Chaboud A, Chulia A, et al. A phloracetophenone glucoside from *Rhododendron ferrugineum* [J]. Phytochemistry, 1998, 47: 87-88.
- [52] Baek SW, Kim ER, Kim J, et al. Chemical constituents of *Abies koreana* leaves with inhibitory activity against nitric oxide production in BV2 microglia cells [J]. Nat Prod Sci, 2011, 17: 175-180.