

## 苏合香中一个新的松香烷二萜

冯结楠<sup>1,2</sup>, 程永现<sup>1,2\*</sup>

(1. 广东药科大学药学院, 广东广州 510006; 2. 广东省中药有效成分与肠道微生物组学重点实验室, 深圳大学中医药守正创新研究院, 深圳大学医学部药学院, 广东深圳 518060)

**摘要:** 运用 MCI Gel CHP 20P、Sephadex LH-20、ODS 和硅胶等柱色谱, 结合 TLC、半制备液相色谱等分离纯化方法, 从苏合香水提物的 95% 乙醇溶解物中得到 12 个松香烷二萜化合物。运用 1D、2D NMR、UV、MS 等现代波谱学方法对所分离得到的化合物进行结构鉴定, 并运用计算 ECD 的方法确定了新化合物的绝对构型。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 鉴定为 (4*R*,5*R*,9*S*,10*R*,12*S*)-12-methoxy-neoabietic acid, 化合物 **2**~**12** 为首次从苏合香中分离得到。

**关键词:** 苏合香; 树脂; 松香烷型二萜; 提取分离; 结构鉴定

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)10-2836-06

## A new abietane diterpene from the *Styrax*

FENG Jie-nan<sup>1,2</sup>, CHENG Yong-xian<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Chinese Medicine Ingredients and Gut Microbiomics, Institute for Inheritance-Based Innovation of Chinese Medicine, School of Pharmacy, Shenzhen University Medical School, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

**Abstract:** Twelve abietane diterpenes were isolated from the 95% ethanol fraction solvated from the aqueous extract of *Styrax* by using various chromatographic methods, including MCI Gel CHP 20P, Sephadex LH-20, ODS, silica gel, TLC and semi-preparative HPLC. The structures of the isolated compounds were identified by spectroscopy methods (1D, 2D NMR, UV, MS, etc.), and the absolute configuration of the new compound was determined by ECD calculations. Compound **1** is a new compound, which was identified as (4*R*,5*R*,9*S*,10*R*,12*S*)-12-methoxy-neoabietic acid, and compounds **2**–**12** were isolated from *Styrax* for the first time.

**Key words:** *Styrax*; resin; abietane diterpenes; extraction and separation; structural identification

苏合香为金缕梅科 (Hamamelidaceae) 植物苏合香树 (*Liquidambar orientalis* Mill.) 树干渗出的香树脂经加工精制而成<sup>[1]</sup>, 主产于非洲、印度及土耳其等地。苏合香味辛性温, 归心脾二经, 主要功效为开窍、辟秽、止痛, 用于中风痰厥, 猝然昏倒, 胸腹冷痛和惊痫等症<sup>[2]</sup>。多年来, 苏合香不仅在东亚、印度、非洲和土耳其被广泛用作民间药物, 而且还是一种流行的食品和葡萄酒香料。秦汉时期苏合香通过丝绸之路传入中国, 魏晋时期陶弘景撰著的《名医别录》首次记载了其

药用价值<sup>[3]</sup>。尽管入药历史悠久, 但对其化学成分的系统研究却较少。苏合香含树脂约 36%, 水分约 14%~21%, 其余为油状液体<sup>[4]</sup>。苏合香中的树脂为一种白色、无臭、无晶形的物质, 主要由树脂酯类及树脂酸类组成, 前者为树脂醇类与芳香酸 (主要是肉桂酸和苯甲酸) 结合而成的酯类, 后者主要由齐墩果酮酸和 3-表-齐墩果酮酸<sup>[5]</sup>组成。油状液体大多由芳香族和萜类化合物组成, 前者主要为肉桂酸及其酯类, 后者主要为单萜及倍半萜类<sup>[6]</sup>。此外, 苏合香的油状液体中尚含有部分不饱和脂肪酸如亚油酸等<sup>[7,8]</sup>。现代药理研究表明, 苏合香具有抗心肌缺血、抗血小板聚集、抗血栓形成和抗菌等作用, 其中的芳香族和萜类化合物

收稿日期: 2024-04-24; 修回日期: 2024-06-23.

\*通讯作者 Tel: 86-755-86172799, E-mail: yxcheng@szu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0399

是苏合香最重要的活性成分<sup>[9]</sup>。为了进一步从苏合香中寻找结构新颖的化学成分, 丰富其化学组成, 本研究对苏合香的化学成分进行了系统的分离鉴定, 从其水提物的95%乙醇溶解物中分离纯化得到了12个松香烷二萜类化合物(图1), 其中, 化合物**1**为新化合物, 化合物**2**~**12**为首次从苏合香中分离得到。

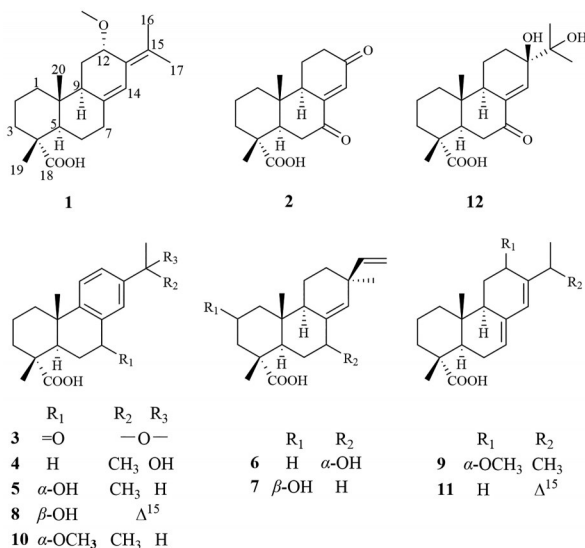


Figure 1 Structures of compounds 1–12

## 结果与讨论

化合物**1**为黄色油状物,  $[\alpha]_D^{20}$  -6.0 ( $c$  0.05, MeOH), HR-ESI-MS 给出准分子离子峰  $m/z$  333.203 8  $[M+H]^+$ , 计算值为 333.242 4, 推测分子式为  $C_{21}H_{32}O_3$ , 不饱和度为 6。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 500 MHz) 数据(表1)显示4个单峰甲基信号 [ $\delta_H$  1.82 (3H, s, H-16), 1.78 (3H, s, H-17), 1.20 (3H, s, H-19), 0.77 (3H, s, H-20)], 1个烯氢质子信号 [ $\delta_H$  6.06 (1H, s, H-14)] 和1个甲氧基信号 [ $\delta_H$  3.26 (3H, s, 12-OCH<sub>3</sub>)]。分析其  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz) 谱并结合 HSQC 谱, 发现化合物**1**中有21个碳, 其中包括1个羧基碳信号 [ $\delta_C$  184.4 (C-18)], 4个双键碳信号 [ $\delta_C$  138.7 (C-8), 128.9 (C-13), 127.9 (C-15), 119.5 (C-14)], 1个连氧次甲基碳信号 [ $\delta_C$  73.6 (C-12)] 和1个甲氧基碳信号 [ $\delta_C$  55.4 (12-OCH<sub>3</sub>)]。上述数据表明, 化合物**1**为松香烷二萜类化合物, 其结构与 12-ethoxy-neoabietic acid 相似<sup>[10]</sup>, 唯一的区别是与 C-12 相连的乙氧基替换成了甲氧基。在 HMBC 谱中 H-12 ( $\delta_H$  4.36) 和 12-OCH<sub>3</sub> ( $\delta_C$  55.4) 的相关信号证实了上述推测(图2)。根据以上信息确定了化合物**1**的平面结构。其相对构型是通过分析耦合常数和 ROESY 谱图相关信号(图3)确定的。H-5 的耦合常数  $^3J_{H5, H6} = 12.6$  Hz 表明其位于直立键<sup>[11]</sup>, ROESY 谱显示 H<sub>3</sub>-19/H<sub>3</sub>-20 的相关信号, 根据松香烷的生源途径, 确定 H<sub>3</sub>-20/H<sub>3</sub>-19 为  $\beta$  取向, H-5 为  $\alpha$  取向,

由 H-5/H-9 的相关信号推测 H-9 为  $\alpha$  取向。然而, H-9/H-11 的部分信号重叠, 且 H<sub>3</sub>-20/H-12 的 ROESY 相关性的缺乏使得 C-9 和 C-12 的相对构型难以确定, 因此采用计算 NMR, 发现构型为 (4*R*\*, 5*R*\*, 9*S*\*, 10*R*\*, 12*S*\*) 的 DP4+ 概率达到了 100%。进一步通过 ECD 计算来确定化合物**1**的绝对构型, 结果显示实验 ECD 曲线与构型 (4*R*, 5*R*, 9*S*, 10*R*, 12*S*)-**1** 的计算 ECD 曲线吻合较好(图4), 由此确定化合物**1**的结构为 (4*R*, 5*R*, 9*S*, 10*R*, 12*S*)-12-methoxy-neoabietic acid。

Table 1  $^1H$  (500 MHz) and  $^{13}C$  (150 MHz) NMR data of **1** in  $CDCl_3$

No.	$\delta_H$ (J in Hz)	$\delta_C$ , type	No.	$\delta_H$ (J in Hz)	$\delta_C$ , type
1	Ha: 1.67, m Hb: 1.20, m	38.4, CH <sub>2</sub>	11	Ha: 2.12, m Hb: 1.33, m	26.9, CH <sub>2</sub>
2	Ha: 1.60, m Hb: 1.52, m	18.2, CH <sub>2</sub>	12	4.36, brs	73.6, CH
3	Ha: 1.81, m Hb: 1.66, m	37.1, CH <sub>2</sub>	13		128.9, C
4		47.3, C	14	6.06, s	119.5, CH
5	2.02, dd (12.6, 2.6)	48.6, CH	15		127.9, C
6	Ha: 1.50, m Hb: 1.31, m	24.8, CH <sub>2</sub>	16	1.82, s	20.6, CH <sub>3</sub>
7	Ha: 2.30, m Hb: 2.27, m	35.2, CH <sub>2</sub>	17	1.78, s	20.2, CH <sub>3</sub>
8		138.7, C	18		184.4, C
9	2.14, overlap	47.0, CH	19	1.20, s	16.9, CH <sub>3</sub>
10		37.1, C	20	0.77, s	15.1, CH <sub>3</sub>
			12-OCH <sub>3</sub>	3.26, s	55.4, CH <sub>3</sub>

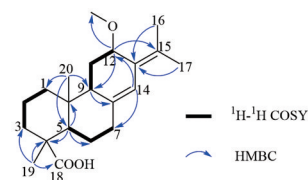


Figure 2 Key  $^1H$ - $^1H$  COSY and HMBC correlations of compound **1**

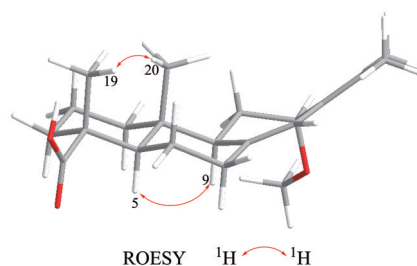


Figure 3 Key ROESY correlations of compound **1**

## 实验部分

赛谱锐思 SP-5030 型半制备液相色谱仪 (赛谱锐思北京科技有限公司); Anton Paar MCP-100 数字偏振仪 (奥地利 Anton Paar 公司); JASCOJ-815 圆二色光谱仪

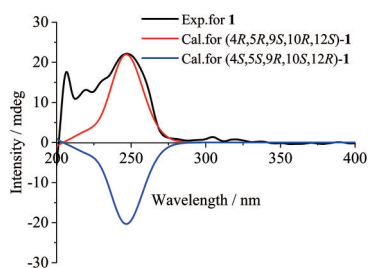


Figure 4 Experimental and calculated ECD curves of compound 1

(日本JASCO公司); 布鲁克AV-500 MHz或AV-600 MHz核磁共振光谱仪(TMS做内标, 德国Bruker公司); Shimadzu LC-20AD AB SCIEX TRIPLE TOF X500R MS光谱仪(日本Shimadzu公司); 硅胶柱色谱材料(200~300目, 青岛海洋化工有限公司); MCI Gel CHP 20P柱色谱材料(75~150  $\mu\text{m}$ , 日本东京三菱化学公司); ODS柱色谱材料(40~60  $\mu\text{m}$ , 日本YMC有限公司); Sephadex LH-20柱色谱材料(25~100  $\mu\text{m}$ , Amersham Pharmacia, 瑞典); N-1100型旋转蒸发仪、SB-1100型水浴锅、CA-1111型冷凝水循环装置(上海爱郎仪器有限公司); XMTD-8222型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); BSZ-100自动部分收集器(上海嘉鹏科技有限公司); XS205DxalRange分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); YMC-Pack ODS-A半制备柱(250 mm  $\times$  20 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); 色谱甲醇(安耐吉化学公司); 高分辨质谱仪、高效液相色谱等使用屈臣氏蒸馏水, 柱色谱分离使用有机溶剂甲醇、丙酮(上海泰坦科技股份有限公司)等为工业级。

苏合香药材于2021年8月购自中国广东省佛山市, 产地为土耳其, 经广东省中药研究所曾庆钱教授鉴定, 标本保存于中国深圳大学药学院中医药守正创新研究院(标本号: CHYX0667)。

## 1 提取分离

将20.0 kg苏合香粉碎后, 先用2倍量的水采用水蒸气蒸馏法回流提取5 h, 得到挥发油426 mL, 水提液减压浓缩后用乙酸乙酯等体积萃取2次, 再经减压浓缩得到乙酸乙酯部位(116.0 g)和水部位浸膏。水部位浸膏再用2倍体积95%乙醇冷浸(2次, 每次2 h), 乙醇溶解物浓缩后(7.1 kg)经过MCI Gel CHP 20P柱色谱, 用甲醇-水系统(80:20~100:0)梯度洗脱后, 划分合并为7大段(Fr.A~G)。Fr.B(1.1 kg)经过硅胶柱色谱分离, 石油醚-丙酮(15:1、11:1、7:1、5:1、3:1、2:1、1:1)依次梯度洗脱, 得到Fr.B1(120.4 g)、Fr.B2(60.2 g)、Fr.B3(87.2 g)、Fr.B4(134.3 g)、Fr.B5(183.1 g)、Fr.B6(52.1 g)、Fr.B7(52.0 g)和Fr.B8(128.4 g)共8段。

Fr.B2(60.2 g)上ODS色谱柱, 以甲醇-水(62:38~

100:0)为洗脱剂进行梯度洗脱, 依次得到Fr.B2-1~2-10。Fr.B2-6(20.2 g)经过硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯20:1~0:100)梯度洗脱, 依次得到Fr.B2-6-1~2-6-5。Fr.B2-6-4(2.1 g)经过硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯20:1~0:100)梯度洗脱, 依次得到Fr.B2-6-4-1~2-6-4-3。Fr.B2-6-4-1(94.6 mg)经半制备高效液相(甲醇-水100:0, 流速: 3 mL $\cdot$ min $^{-1}$ )纯化, 得到化合物11( $t_{\text{R}}$  = 8.8 min, 6.4 mg)。Fr.B2-6-4-3(1.8 g)经过Sephadex LH-20柱色谱(二氯甲烷-甲醇1:1), 依次得到Fr.B2-6-4-3-1~2-6-4-3-3。Fr.B2-6-4-3-3(419.4 mg)经正相硅胶的真空柱色谱(二氯甲烷-乙酸乙酯100:1~0:100)梯度洗脱, 依次得到Fr.B2-6-4-3-3-1~2-6-4-3-3-4。Fr.B2-6-4-3-3-3(182.1 mg)经制备TLC纯化(二氯甲烷-乙酸乙酯5:1), 得到化合物10(26.4 mg)。Fr.B2-6-4-3-3-4(101.6 mg)经制备TLC纯化(石油醚-乙酸乙酯3:1), 得到化合物1(28.2 mg)。Fr.B2-9(920.1 mg)经过Sephadex LH-20柱色谱(MeOH), 依次得到Fr.B2-9-1和2-9-2。Fr.B2-9-1(874.2 mg)经正相硅胶的真空柱色谱(石油醚-乙酸乙酯20:1~0:100)梯度洗脱, 依次得到Fr.B2-9-1-1~2-9-1-4。Fr.B2-9-1-3(442.1 mg)经半制备高效液相(甲醇-水90:10, 流速: 3 mL $\cdot$ min $^{-1}$ )纯化, 得到化合物9( $t_{\text{R}}$  = 13.7 min, 10.5 mg)。

Fr.B6(52.1 g)上MCI Gel CHP 20P柱色谱, 以甲醇-水(58:42~100:0)梯度洗脱, 依次得到Fr.B6-1~6-4。Fr.B6-2(7.0 g)经硅胶柱色谱(二氯甲烷-丙酮100:0~0:100)梯度洗脱, 依次得到Fr.B6-2-1~6-2-7。Fr.B6-2-4(1.0 g)经过Sephadex LH-20柱色谱(MeOH), 依次得到Fr.B6-2-4-1~6-2-4-3。Fr.B6-2-4-1(369.3 mg)经正相硅胶的真空柱色谱(石油醚-乙酸乙酯10:1~1:1)梯度洗脱, 依次得到Fr.B6-2-4-1-1~6-2-4-1-6。Fr.B6-2-4-1-2(39.1 mg)经半制备高效液相(甲醇-水75:25, 流速: 3 mL $\cdot$ min $^{-1}$ )纯化, 得到化合物4( $t_{\text{R}}$  = 16.0 min, 2.2 mg)。Fr.B6-2-4-3(93.3 mg)经半制备高效液相(甲醇-水70:30, 流速: 3 mL $\cdot$ min $^{-1}$ )纯化, 得到化合物2( $t_{\text{R}}$  = 8.6 min, 61.4 mg)和化合物3( $t_{\text{R}}$  = 11.1 min, 10.8 mg)。Fr.B6-2-5(1.2 g)经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯8:1~1:1)梯度洗脱, 依次得到Fr.B6-2-5-1~6-2-5-3。Fr.B6-2-5-3(898.7 mg)经过Sephadex LH-20柱色谱(二氯甲烷-甲醇1:1), 依次得到Fr.B6-2-5-3-1~6-2-5-3-3。Fr.B6-2-5-3-3(779.3 mg)经过Sephadex LH-20柱色谱(二氯甲烷-甲醇1:1), 依次得到Fr.B6-2-5-3-3-1~6-2-5-3-3-3。Fr.B6-2-5-3-3-3(197.7 mg)经半制备高效液相(甲醇-水82:18, 流速: 3 mL $\cdot$ min $^{-1}$ )纯化, 得到化合物8( $t_{\text{R}}$  = 13.7 min, 4.3 mg)。Fr.B6-2-7(1.1 g)经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯10:1~1:1)

梯度洗脱,依次得到Fr.B6-2-7-1~6-2-7-7。Fr.B6-2-7-1 (203.7 mg) 经半制备高效液相(甲醇-水84:16,流速:3 mL·min<sup>-1</sup>)纯化,得到化合物**5**( $t_R = 15.2$  min, 5.7 mg)。Fr.B6-2-7-2 (351.7 mg) 经正相硅胶的真空柱色谱(二氯甲烷-丙酮100:1~1:1)梯度洗脱,依次得到Fr.B6-2-7-2-1~6-2-7-2-2。Fr.B6-2-6-7-2-1 (90.7 mg) 经半制备高效液相(甲醇-水84:16,流速:3 mL·min<sup>-1</sup>)纯化,得到化合物**6**( $t_R = 17.7$  min, 13.1 mg)和化合物**7**( $t_R = 7.7$  min, 5.9 mg)。Fr.B6-2-7-4 (460.7 mg) 经正相硅胶的真空柱色谱(二氯甲烷-乙酸乙酯10:1~1:1)梯度洗脱,依次得到Fr.B6-2-7-4-1和6-2-7-4-2。Fr.B6-2-7-4-1 (92.6 mg) 经制备TLC(石油醚-乙酸乙酯1:1)纯化,得到化合物**12**(6.0 mg)。

## 2 结构鉴定

化合物**1** 黄色油状物,  $[\alpha]_D^{20} -6.0$  ( $c$  0.05, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{max}$  (log  $\epsilon$ ) 243 (3.33)、200 (3.45) nm; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) 和 <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 数据见表1, (+) HR-ESI-MS  $m/z$  333.203 8 [M+H]<sup>+</sup> (计算值为C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup>, 333.242 4)。

化合物**2** 褐色油状物, ESI-MS  $m/z$  291 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta_H$  0.94 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.30 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 2.62 (1H, dt,  $J = 10.5, 3.6$  Hz, H-9), 6.68 (1H, dd,  $J = 3.0, 1.2$  Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_C$  38.8 (C-1), 17.7 (C-2), 36.9 (C-3), 46.1 (C-4), 43.9 (C-5), 37.9 (C-6), 200.1 (C-7), 151.9 (C-8), 51.8 (C-9), 35.9 (C-10), 23.0 (C-11), 38.0 (C-12), 199.2 (C-13), 130.5 (C-14), 183.2 (C-18), 16.4 (C-19), 15.1 (C-20)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致,故确定化合物**2**为8(14)-podocarpin-7,13-dione-18-oic acid。

化合物**3** 黄色油状物, ESI-MS  $m/z$  315 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta_H$  1.30 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.38 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 2.63 (3H, s, CH<sub>3</sub>-16), 7.51 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-11), 8.16 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.1$  Hz, H-12), 8.55 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_C$  36.9 (C-1), 18.1 (C-2), 36.5 (C-3), 46.5 (C-4), 43.2 (C-5), 37.8 (C-6), 197.8 (C-7), 130.9 (C-8), 160.0 (C-9), 38.1 (C-10), 124.4 (C-11), 133.2 (C-12), 135.5 (C-13), 128.3 (C-14), 197.5 (C-15), 26.8 (C-16), 183.0 (C-18), 16.3 (C-19), 23.5 (C-20)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致,故确定化合物**3**为17-nor-7,15-dione-8,11,13-abietatrien-18-oic acid。

化合物**4** 黄色油状物, ESI-MS  $m/z$  339 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式为C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta_H$  1.22 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.29 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 1.56 (6H, s, CH<sub>3</sub>-

16,17), 2.24 (1H, dd,  $J = 12.5, 1.7$  Hz, H-5), 2.92 (2H, m, H-7), 7.16 (1H, brs, H-14), 7.22 (1H, brs, H-11), 7.22 (1H, brs, H-12); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_C$  38.0 (C-1), 18.6 (C-2), 36.8 (C-3), 47.5 (C-4), 44.7 (C-5), 21.9 (C-6), 30.3 (C-7), 134.9 (C-8), 148.0 (C-9), 37.1 (C-10), 125.1 (C-11), 122.1 (C-12), 146.2 (C-13), 124.3 (C-14), 72.5 (C-15), 31.8 (C-16), 31.8 (C-17), 183.2 (C-18), 16.5 (C-19), 25.2 (C-20)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致,故确定化合物**4**为15-羟基-脱氢枞酸(15-hydroxy-dehydroabietic acid)。

化合物**5** 黄色油状物, ESI-MS  $m/z$  655 [2M+Na]<sup>+</sup>, 分子式为C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta_H$  1.15 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.22 (3H, s, CH<sub>3</sub>-16), 1.24 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 1.26 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 2.47 (1H, dd,  $J = 13.0, 1.7$  Hz, H-5), 2.87 (1H, q,  $J = 6.8$  Hz, H-15), 4.79 (1H, brs, H-7), 7.12 (1H, brs, H-12), 7.18 (1H, brs, H-11), 7.19 (1H, brs, H-14); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_C$  37.9 (C-1), 18.7 (C-2), 36.3 (C-3), 47.2 (C-4), 40.0 (C-5), 30.9 (C-6), 68.5 (C-7), 135.7 (C-8), 146.8 (C-9), 37.5 (C-10), 124.4 (C-11), 126.8 (C-12), 146.8 (C-13), 128.4 (C-14), 33.7 (C-15), 24.0 (C-16), 24.2 (C-17), 182.5 (C-18), 16.5 (C-19), 24.3 (C-20)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致,故确定化合物**5**为7 $\alpha$ -羟基-脱氢枞酸(7 $\alpha$ -hydroxy-dehydroabietic acid)。

化合物**6** 白色固体, ESI-MS  $m/z$  341 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式为C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta_H$  0.75 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.04 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 1.19 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 2.18 (1H, brt,  $J = 7.5$  Hz, H-9), 2.40 (1H, brd,  $J = 11.2$  Hz, H-5), 4.31 (1H, brs, H-7 $\alpha$ ), 4.84 (1H, d,  $J = 17.3$  Hz, H-16 $\beta$ ), 4.97 (1H, d,  $J = 10.4$  Hz, H-16 $\alpha$ ), 5.48 (1H, brs, H-14), 5.70 (1H, dd,  $J = 17.4, 10.5$  Hz, H-15); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_C$  38.1 (C-1), 18.2 (C-2), 36.9 (C-3), 46.8 (C-4), 41.9 (C-5), 31.5 (C-6), 73.2 (C-7), 140.0 (C-8), 47.1 (C-9), 38.1 (C-10), 18.5 (C-11), 35.4 (C-12), 38.8 (C-13), 134.4 (C-14), 146.6 (C-15), 113.5 (C-16), 29.2 (C-17), 182.7 (C-18), 16.9 (C-19), 14.4 (C-20)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致,故确定化合物**6**为7 $\alpha$ -羟基去氢松香酸(7 $\alpha$ -hydroxypimaric acid)。

化合物**7** 白色固体, ESI-MS  $m/z$  341 [M+Na]<sup>+</sup>, 分子式为C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta_H$  0.82 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20), 1.00 (3H, s, CH<sub>3</sub>-17), 1.24 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 1.74 (1H, m, H-9), 3.88 (1H, m, H-2 $\alpha$ ), 4.90 (1H, d,  $J = 17.2$  Hz, H-16 $\beta$ ), 4.96 (1H, d,  $J = 10.2$  Hz, H-16 $\alpha$ ), 5.19 (1H, brs, H-14), 5.73 (1H, dd,  $J = 17.3, 10.3$  Hz, H-

15);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  47.6 (C-1), 64.9 (C-2), 45.5 (C-3), 48.6 (C-4), 48.5 (C-5), 35.6 (C-6), 24.2 (C-7), 137.0 (C-8), 51.6 (C-9), 39.5 (C-10), 19.2 (C-11), 35.2 (C-12), 38.8 (C-13), 129.3 (C-14), 147.3 (C-15), 113.1 (C-16), 29.6 (C-17), 183.5 (C-18), 18.0 (C-19), 16.1 (C-20)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故确定化合物 **7** 为  $2\beta$ -羟基去氢松香酸 ( $2\beta$ -hydroxypimaric acid)。

化合物 **8** 黄色油状物, ESI-MS  $m/z$  337  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3$ 。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  1.30 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1.31 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20), 2.14 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -17), 2.27 (1H, m, H-5), 4.91 (1H, brt,  $J = 8.7$  Hz, H-7), 5.05 (1H, brs, H-16), 5.36 (1H, brs, H-16), 7.20 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-11), 7.36 (1H, dd,  $J = 8.4, 1.96$  Hz, H-12), 7.63 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-14);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  38.0 (C-1), 18.5 (C-2), 36.5 (C-3), 47.2 (C-4), 43.4 (C-5), 32.9 (C-6), 70.8 (C-7), 137.7 (C-8), 148.5 (C-9), 37.8 (C-10), 124.4 (C-11), 124.6 (C-12), 139.2 (C-13), 125.1 (C-14), 143.0 (C-15), 112.3 (C-16), 21.9 (C-17), 183.0 (C-18), 16.4 (C-19), 25.5 (C-20)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故确定化合物 **8** 为  $7\beta$ -hydroxy-15-en-dehydroabietic acid。

化合物 **9** 白色固体, ESI-MS  $m/z$  333  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_3$ 。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  0.81 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20), 1.04 (1H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-16), 1.08 (1H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-17), 1.24 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 2.08 (1H, m, H-5), 2.29 (H, d,  $J = 13.6$  Hz,  $\text{CH}_3$ -9), 2.38 (1H, m, H-15), 3.79 (1H, t, H-12 $\beta$ ), 5.49 (1H, brs, H-7), 5.85 (1H, s, H-14);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  38.1 (C-1), 18.2 (C-2), 37.1 (C-3), 46.3 (C-4), 44.9 (C-5), 25.0 (C-6), 124.1 (C-7), 134.6 (C-8), 43.8 (C-9), 34.0 (C-10), 25.8 (C-11), 75.7 (C-12), 142.3 (C-13), 126.2 (C-14), 32.8 (C-15), 21.7 (C-16), 22.3 (C-17), 183.6 (C-18), 16.8 (C-19), 14.5 (C-20), 56.4 (12-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致, 故确定化合物 **9** 为  $12\alpha$ -methoxy-7,13-abietadien-18-oic acid。

化合物 **10** 白色固体, ESI-MS  $m/z$  331  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_3$ 。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  0.94 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20), 1.14 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -16), 1.23 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -17), 1.28 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 3.43 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>), 2.91 (1H, m, H-5), 4.32 (1H, dd,  $J = 3.8, 1.5$  Hz, H-7), 7.15 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-14), 7.16 (1H, dd,  $J = 7.9, 2.0$  Hz, H-12), 7.22 (1H, d,  $J = 7.9$  Hz, H-11);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  37.7 (C-1), 18.7 (C-2), 36.3 (C-3), 47.2 (C-4), 40.0 (C-5), 25.2 (C-6), 76.8 (C-7), 134.2 (C-8), 146.9

(C-9), 37.5 (C-10), 124.2 (C-11), 126.6 (C-12), 146.26 (C-13), 128.7 (C-14), 33.7 (C-15), 24.0 (C-16), 24.2 (C-17), 184.4 (C-18), 16.5 (C-19), 24.5 (C-20), 56.1 (C-21)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致, 故确定化合物 **10** 为  $7\alpha$ -methoxy-dehydroabietic acid。

化合物 **11** 白色固体, ESI-MS  $m/z$  301  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$ 。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  0.86 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20), 1.29 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1.96 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -17), 4.95 (1H, s, Hb-16), 5.07 (1H, s, Ha-16), 5.62 (1H, brs, H-7), 6.19 (1H, s, H-14);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  38.3 (C-1), 18.2 (C-2), 37.3 (C-3), 46.4 (C-4), 44.9 (C-5), 26.1 (C-6), 124.7 (C-7), 136.0 (C-8), 50.4 (C-9), 34.6 (C-10), 26.3 (C-11), 22.2 (C-12), 143.3 (C-13), 127.1 (C-14), 136.5 (C-15), 111.4 (C-16), 20.7 (C-17), 184.3 (C-18), 16.9 (C-19), 14.2 (C-20)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道基本一致, 故确定化合物 **11** 为  $7,13,15$ -abietatrien-18-oic acid。

化合物 **12** 白色固体, ESI-MS  $m/z$  373  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_5$ 。  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta_{\text{H}}$  0.94 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20), 1.14 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -16), 1.23 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -17), 1.28 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 7.02 (1H, s, H-14);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$  39.3 (C-1), 18.9 (C-2), 38.2 (C-3), 47.1 (C-4), 45.5 (C-5), 39.7 (C-6), 201.9 (C-7), 139.6 (C-8), 53.0 (C-9), 36.5 (C-10), 19.7 (C-11), 31.1 (C-12), 74.6 (C-13), 140.2 (C-14), 75.5 (C-15), 24.4 (C-16), 24.8 (C-17), 181.4 (C-18), 16.9 (C-19), 14.8 (C-20)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道基本一致, 故确定化合物 **12** 为  $\beta$ -oxo-13 $\beta$ ,15-dihydroxyabiet-8(14)-en-18-oic acid。

### 3 ECD 计算

进行ECD计算的结构由Chem 3D生成3D结构后用MMFF94力场进行结构优化, 再经linux系统进行处理后用于在CONFLEX 9.0软件上进行构象的查找, 从而获得分子的不同构型构象。选择GPOP占比排列靠前且总和大于80%的优势构象, 在Gaussian 09软件中通过DFT/B3LYP/6-31G (d,p)结构优化后在B3LYP/6-31G (d,p)水平下以甲醇为溶剂进行ECD计算。计算得到的ECD数据图谱和在实验测试得到的CD真实数据通过SpecDis 1.62软件可进行拟合比较, 并使用紫外能量对图谱进行校正, 通过Origin Pro 2021软件绘制折线图对比, 推测出最符合实际的化合物构型。

作者贡献: 程永现负责实验设计、文章的审阅和提出论文写作的建议; 冯结楠负责实验实施、数据处理和文章撰写。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

## References

- [1] Mu F, Zhang Q, Lin R, et al. Chemical constituents in the extract of *Styrax* by GC-TOF-MS and UHPLC-QE-MS [J]. *Cent South Pharm (中南药学)*, 2024, 22: 36-42.
- [2] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 172.
- [3] Fu DM. Suhexiang pills and silk road medical culture exchange [J]. *Int Med Hist Rev (医疗社会史研究)*, 2020, 5: 85-104.
- [4] Lu QT, Hong SB, Zhang JL. GC-MS and LC-MS/MS analysis of effective components and pharmacokinetics of Suhexiang (*Storax*) [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med (辽宁中医杂志)*, 2023, 50: 182-185.
- [5] Wang F, Cui HH, Wang SM. Studies on chemical constituents of storax [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2011, 17: 89-91.
- [6] Wang Y, Xu ZP, Wang J, et al. Overview of storax [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med (中药与临床)*, 2013, 4: 49-52.
- [7] Shi BQ, Li CX, Ding LY, et al. Research of the identification of the *Styrax* in new Guanxin Suhe droplet pill by thin-layer chromatography [J]. *J Logist Univ CAPF (Med Sci) (武警医学院学报)*, 2009, 18: 668-669.
- [8] Wu HY, Li CX, You HL, et al. Determination of cinnamic acid in new Guanxinsuhe drop pill with RP-HPLC [J]. *J Hebei Med Univ (河北医科大学学报)*, 2008, 29: 239-241.
- [9] Xu Z, Lu D, Yuan J, et al. *Storax*, a promising botanical medicine for treating cardio-cerebrovascular diseases: a review [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 785598.
- [10] Liu YF, Song ZM, Zeng MN, et al. Diterpenes from *Pinus kesiya* var. *langbianensis* (A. Chev.) Gaussen ex Bui (Pinaceae) and their protective effects in LPS-treated BEAS-2B cells [J]. *Phytochemistry*, 2022, 203: 113360.
- [11] Liu YF, Wang YZ, Song ZM, et al. A new diterpenoid acid from the rosin of *Pinus kesiya* var. *langbianensis* (A. Chev.) Gaussen ex Bui [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 2786-2790.
- [12] Yang XW, Li SM, Feng L, et al. Abiesanordines A-N: fourteen new norditerpenes from *Abies georgei* [J]. *Tetrahedron*, 2008, 64: 4354-4362.
- [13] Koutsaviti A, Ioannou E, Couladis M, et al.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral assignments of abietane diterpenes from *Pinus heldreichii* and *Pinus nigra* subsp *nigra* [J]. *Magn Reson Chem*, 2017, 772-778.
- [14] Yang L, Guo P, Liu A, et al. Aquilariaenes A-H, eight new diterpenoids from Chinese eaglewood [J]. *Fitoterapia*, 2019, 133: 180-185.
- [15] Yang NY, Liu L, Tao WW, et al. Diterpenoids from *Pinus massoniana* and their cytotoxicity against A431 and A549 cells [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71: 1528-1533.
- [16] Wu L, Li YL, Li SM, et al. Systematic phytochemical investigation of *Abies spectabilis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2010, 58: 1646-1649.
- [17] Cheung HTA, Miyasel T, Lenguyen MP, et al. Further acidic constituents and neutral components of *Pinus massoniana* resin [J]. *Tetrahedron*, 1993, 49: 7903-7915.
- [18] Yang X, Zhang H, Zhang YC, et al. Two new diterpenoid acids from *Pinus koraiensis* [J]. *Fitoterapia*, 2008, 79: 179-181.