杜仲皮中一个新的五元环内酯类化合物

蒋飘飘[1], 匡 南[1], 曾诚坤[1], 袁汉文[1], 向红辉[2], 王汝琴[2], 唐秋云[2], 江星明[1*], 李 斌[1*], 王 炜[1]

(1. 湖南中医药大学药学院 湖南省中医药民族医药国际联合实验室, 湖南 长沙 410208; 2. 张家界国仲生物科技有限公司, 湖南 张家界 427200)

摘要: 利用硅胶、Sephadex LH-20凝胶、ODS、MCI色谱以及半制备HPLC柱色谱等技术对杜仲皮中化学成分进行分离和纯化, 结合NMR、IR、UV、MS等波谱学技术对化合物结构进行鉴定, 共分离得到6个化合物, 分别是杜仲内酯 (**1**)、(7*S*,8*R*)-4-hydroxy-3,3′,5′-trimethoxy-8,9-dinor-8,4′-oxyneoligna-7,9-diol-7′-aldehye (**2**)、armaosigenin (**3**)、(−) evofolin B (**4**)、*N*-反式阿魏酸酪酰胺 (**5**)、*C*-藜芦酰乙二醇 (**6**)。其中化合物**1**是新的五元环内酯类化合物, 化合物**2**～**5**首次从杜仲皮中分离得到, 此外, 化合物**2**～**4**表现出一定的抗氧化能力, 对2,2-二苯基-1-苦基肼基自由基 (DPPH) 清除活性的IC_{50}值是46.34 ± 5.80、74.17 ± 8.71、78.02 ± 8.94 μg·mL^{-1}, 对2,2′-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸自由基 (ABTS) 清除活性的IC_{50}值是50.56 ± 1.35、54.37 ± 3.04、55.61 ± 3.41 μg·mL^{-1}。

关键词: 杜仲皮; 化学成分; 五元环内酯; 抗氧化活性

中图分类号: R284 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)04-1321-06

A new five-membered lactone from the bark of *Eucommia ulmoides*

JIANG Piao-piao[1], KUANG Nan[1], ZENG Cheng-kun[1], YUAN Han-wen[1], XIANG Hong-hui[2], WANG Ru-qin[2], TANG Qiu-yun[2], JIANG Xing-ming[1*], LI Bin[1*], WANG Wei[1]

(*1. Traditional Chinese Medicine and Ethnomedicine Innovation & Development International Laboratory, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. Zhangjiajie Guozhong Biotechnology Co., Ltd., Zhangjiajie 427200, China*)

Abstract: The chemical constituents in the bark of *Eucommia ulmoides* were isolated and purified using chromatographic techniques, including silica gel, Sephadex LH-20, ODS, MCI, and semi-preparative HPLC. The structures of the compounds were elucidated by spectroscopic analyses (NMR, IR, UV, and MS). A total of six compounds were identified as duzhonglactone (**1**), (7*S*,8*R*)-4-hydroxy-3,3′,5′-trimethoxy-8,9-dinor-8,4′-oxyneoligna-7,9-diol-7′-aldehyde (**2**), armaosigenin (**3**), (−) evofolin B (**4**), *N-trans*-feruloyltyramine (**5**), and *C*-veratroylglycol (**6**). Among them, compound **1** was a new five-membered ring lactone, while compounds **2**−**5** were isolated for the first time from *Eucommia ulmoides* bark. Furthermore, compounds **2**−**4** demonstrated antioxidant activity, with IC_{50} values for 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging of 46.34 ± 5.80, 74.17 ± 8.71, and 78.02 ± 8.94 μg·mL^{-1}, and for 2,2′-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) scavenging of 50.56 ± 1.35, 54.37 ± 3.04, and 55.61 ± 3.41 μg·mL^{-1}, respectively.

Key words: *Eucommia ulmoides* bark; chemical composition; five-membered ring lactone; antioxidant activity

收稿日期: 2025-11-26; 修回日期: 2026-01-21.

基金项目: 湖南省自然科学基金 (2024JJ8128); 湖南省教育厅科研项目 (23A0280); 中药炮制技术传承基地开放基金项目 (2025PZKF01, 2022ZYPZ03).

*通讯作者 E-mail: libin@hnucm.edu.cn; jxm519@qq.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1410

杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.), 又称胶木、思仲, 属于杜仲科药用植物, 其干燥树皮在我国已有两千多年的药用历史, 是中国传统药材之一。据《神农本草经》记载: “杜仲药性甘温, 微辛, 适用于治疗肝肾不足、腰膝酸痛、筋骨无力、头晕目眩等症状。此外, 亦可用于肝肾亏虚引起的妊娠漏血、胎动不安”[1,2]。杜仲主要分布于云南、湖南、河南和甘肃等地。其化学成分主要包括木脂素类、环烯醚萜类、黄酮类、酚酸类及萜类等, 具备降血糖、降血压、调血脂、抗氧化、抗肿瘤、抗骨质疏松症等多重药理作用[3-8], 广泛应用于中成药及中医临床配方中。

为了深入揭示其药理活性的化学物质基础, 本实验对杜仲皮醇提取物的二氯甲烷层进行了化学成分研究, 并从中分离并鉴定出6个化合物。这些化合物分别是杜仲内酯 (**1**)、(7*S*,8*R*)-4-hydroxy-3,3′,5′-trimethoxy-8, 9-dinor-8, 4′-oxyneoligna-7, 9-diol-7′-aldehyde (**2**)、armaosigenin (**3**)、(−) evofolin B (**4**)、*N*-反式阿魏酸酪酰胺 (**5**)、*C*-藜芦酰乙二醇 (**6**), 结构见图1。此外, 本实验还研究了这些单体化合物对自由基的抗氧化能力。结果表明, 化合物**2**～**4**表现出一定的抗氧化能力, 对DPPH自由基清除活性的IC_{50}值分别为46.34 ± 5.80、74.17 ± 8.71、78.02 ± 8.94 μg·mL^{-1}, 对ABTS自由基清除活性的IC_{50}值分别为50.56 ± 1.35、54.37 ± 3.04、55.61 ± 3.41 μg·mL^{-1}。

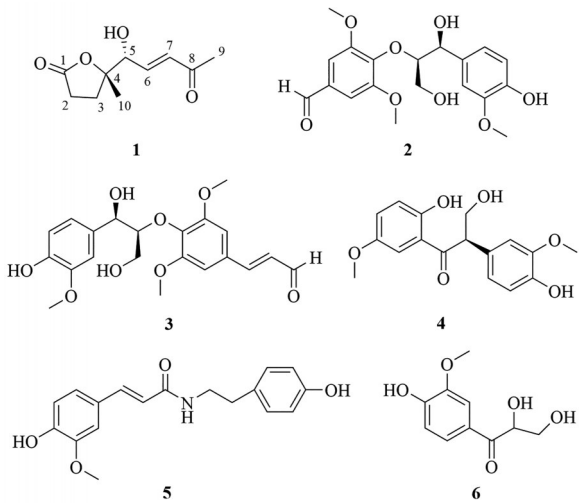


Figure 1 Structures of compounds **1**−**6**

结果与讨论

1 化合物1的结构鉴定

化合物**1** 橙黄色油状物质, 香草醛−浓硫酸反应 (TLC) 斑点显灰色; $[\alpha]_D^{20}$ +60.02 (*c* 0.2, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z* 221.087 1 $[M+Na]^+$ ($C_{10}H_{14}O_4Na^+$, 计算值: 221.087 4), 确定该化合物分子式是$C_{10}H_{14}O_4$, 相对分子质量是198.089 2, 不饱和度为4。UV (MeOH) λ_{max} (log ε): 218 (7.32); IR光谱提示结构中具有甲基 (2 941 cm^{-1})、羟基 (3 443 cm^{-1})、酯羰基 (1 768 cm^{-1})、羰基 (1 714 cm^{-1}) 和双键 (1 634 cm^{-1}) 等官能团。^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) 谱 (表1) 显示有1对反式双键质子信号 δ_H 6.86 (1H, dd, *J* = 16.0, 6.1 Hz, H-6)、6.34 (1H, dd, *J* = 16.0, 1.4 Hz, H-7); 1个次甲基质子信号 δ_H 4.24 (1H, dd, *J* = 6.1, 1.4 Hz, H-5); 2个亚甲基质子信号 δ_H 2.64 (2H, m, H-3)、2.42 (1H, ddd, *J* = 13.0, 9.6, 7.0 Hz, H-2b)、2.00 (1H, ddd, *J* = 13.0, 9.6, 7.9 Hz, H-2a); 以及2个甲基质子信号 δ_H 2.29 (3H, s, H-9)、1.39 (3H, s, H-10)。^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) 谱 (表1) 和DEPT谱显示有10个碳信号, 其中包括2个羰基碳信号 δ_C 200.8 (C-8) 和179.7 (C-1); 2个双键碳信号 δ_C 145.8 (C-6) 和133.4 (C-7); 1个次甲基碳信号 δ_C 77.1 (C-5); 2个亚甲基碳信号 δ_C 31.2 (C-2) 和30.2 (C-3) 以及2个甲基碳信号 δ_C 27.2 (C-9) 和23.6 (C-10)。^{1}H-^{1}H COSY谱中显示存在2个自旋偶合系统, 分别为H-5/H-6/H-7和H-2/H-3 (图2)。将化合物**1**的^{1}H NMR和^{13}C NMR谱和 (+)-(*R*)-pinnatolide的核磁共振氢谱和碳谱数据[9,10]进行比较, 两者五元内酯环部分的数据比较相似, 侧链部分不同。再结合^{1}H-^{1}H COSY谱确定的自旋偶合体系及HMBC图谱中H-2与C-1、C-4相关, H-3与C-1、C-4相关, H-10与C-3、C-4相关确定五元内酯环部分的结构; HMBC图谱中H-6、H-7与C-8相关, H-9与C-8相关 (图2) 确定了侧链部分的结构; 最后HMBC图谱中H-5与C-4、C-10相关, H-10与C-5、C-3相关将五元内酯环与侧链连接在一起。从而确定了化合物**1**的平面结构如图2所示。

在NOESY相关谱中 (图2) 可以观察到10-CH_3与5-H、H-2a之间存在明显相关信号, 提示10-CH_3、5-H与H-2a处于同一侧, 从而推测化合物**1**的相对构型为4β-CH_3, 5α-OH。化合物**1**的绝对构型可能为 (4*R*,5*S*)

Table 1 ^{1}H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compound **1** (CD_3OD)

No.	δ_C	δ_H (*J* in Hz)	No.	δ_C	δ_H (*J* in Hz)
1	179.7	–	6	145.8	6.86 (1H, dd, 16.0, 6.1)
2	31.2	2.42 (1H, ddd, 13.0, 9.6, 7.0) 2.00 (1H, ddd, 13.0, 9.6, 7.9)	7	133.4	6.34 (1H, dd, 16.0, 1.4)
3	30.2	2.64 (2H, m)	8	200.8	–
4	89.2	–	9	27.2	2.29 (3H, s)
5	77.1	4.24 (1H, dd, 6.1, 1.4)	10	23.6	1.39 (3H, s)

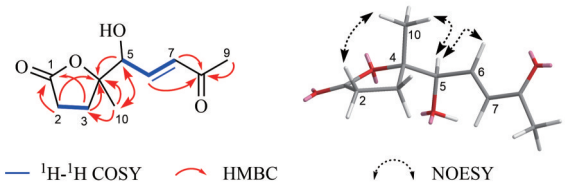


Figure 2 ^{1}H-^{1}H COSY and key HMBC and NOESY correlations of compound **1**

或 (4*S*,5*R*) 两种对映异构体, 根据旋光色散理论, 手性分子的旋光特性与绝对构型存在直接关联, 因此采用旋光色散 (ORD) 计算方法进一步确定化合物**1**的绝对构型[11,12]。通过 Gaussian 09 软件, 在 B3LYP-D3(BJ)/6-31G*水平下完成两种异构体的结构优化与旋光值计算: (4*R*,5*S*) 异构体的计算旋光值为−215.35, 与化合物**1**实验测得的旋光值+60.02 方向相反, 尽管计算值和实验值存在数据差异, 但方向性匹配是构型判定的核心依据, 且偏差处于合理范围, 故确定化合物**1**的绝对构型是4*S*,5*R*。综合上述波谱数据和构型分析结果, 化合物**1**被鉴定为新的五元环内酯类化合物, 命名为杜仲内酯, 结构如图1所示。

2 抗氧化活性

本实验对化合物**1**～**6**都进行了抗氧化能力的评估, 以维生素 C (Vc) 为阳性对照药, 抗氧化活性结果 (表2) 显示, 化合物**2**～**4**展现出一定的抗氧化能力, 而化合物**1**几乎不具备抗氧化能力, 化合物**5**和**6**则表现出较弱的抗氧化能力。其中, 化合物**2**是抗氧化活性最强的单体化合物, 其清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值为 46.34 ± 5.80 μg·mL^{-1}, 清除 ABTS 自由基的 IC_{50} 值为 50.56 ± 1.35 μg·mL^{-1}。

Table 2 Antioxidant activity of compounds **1**−**6** (IC_{50}, μg·mL^{-1}). n = 3, $\bar{x} \pm s$. DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; ABTS: 2,2′-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

Compound	DPPH	ABTS
1	> 300	> 300
2	46.34 ± 5.80	50.56 ± 1.35
3	74.17 ± 8.71	54.37 ± 3.04
4	78.02 ± 8.94	55.61 ± 3.41
5	203.97 ± 17.64	82.56 ± 4.94
6	> 300	85.46 ± 4.07
Vc	39.36 ± 2.48	23.38 ± 1.85

3 讨论

本实验从杜仲皮中分离得到6个化合物, 其中化合物**1**是新的五元环内酯类化合物, 化合物**2**～**5**首次从杜仲皮中分离得到, 此外, 本实验对化合物**1**～**6**都进行了抗氧化能力的评估, 结果显示化合物**2**～**4**展现出一定的抗氧化能力, 其中, 化合物**2**为抗氧化活性最高的单体化合物, 清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值是 46.34 ± 5.80 μg·mL^{-1}, 清除 ABTS 自由基的 IC_{50} 值是 50.56 ± 1.35 μg·mL^{-1}。本实验的结果丰富了杜仲皮的化学成分类型, 此外为杜仲抗氧化的药效物质基础提供了一定的依据。

实验部分

Bruker Avance Neo 600MHz 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); JASCO-FT/IR-4X 红外光谱仪 (日本 Jasco 公司); Shimadzu UV-1900i 紫外光谱仪 (日本岛津公司); J-1500 圆二色光谱仪 (日本 Jasco 公司); Autopol III 旋光仪 (美国鲁道夫公司); TECAN-Spark 多功能酶标仪 (瑞士 TECAN 公司); Agilent 1260 Infini 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); N-1300 旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社); WFH-203B 暗箱式三用紫外线分析仪 (杭州齐威仪器有限公司); SB-5200 DT 超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); NeoLab 智能超纯水仪 (杭州泽南科技有限公司); ME204E 电子天平 (瑞士梅特勒托利多集团); COSMOSIL 半制备色谱柱 (日本 Nacalai Tesque 公司); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (美国 GEHealthcar Bio-Science AB 公司); 柱色谱硅胶 (80～100、200～300、300～400 目) 和 GF_{254} 薄层色谱硅胶板 (青岛海洋化工有限公司); ODS 柱色谱填料 (100 μm, 日本 YMC 公司); 过硫酸钾、石油醚、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、无水乙醇 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 甲醇 (色谱纯, 美国 Sigma-Alderich 公司); DPPH、ABTS 自由基和 Vc (山东科源生化有限公司); 5% 香草醛−浓硫酸显色剂 (自制)。

本实验所用的材料为的杜仲的干燥皮, 产地为湖南省慈利县。经湖南中医药大学药学院王炜教授鉴定为杜仲科杜仲属植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv. 的皮。

1 提取与分离

将干燥杜仲皮 (75 kg) 用 80% 乙醇加热回流提取3次, 每次2 h, 合并提取液后进行减压浓缩, 再经冷冻干燥, 获得总浸膏 (7.5 kg)。将总浸膏按1∶1比例用水进行分散, 超声处理后得到混悬溶液。依次用石油醚 (PE)、二氯甲烷 (DCM)、正丁醇 (*n*-BuOH) 分别萃取3次, 萃取液经减压浓缩和冷冻干燥, 得到3种不同部位的浸膏。

取二氯甲烷部分 (297.3 g), 通过200～300目硅胶柱色谱分离, 使用二氯甲烷−甲醇 (100∶1～0∶100) 进行梯度洗脱, 经硅胶薄层色谱 (TLC) 分析后, 合并得到11个流分 (Fr. 1～Fr. 11)。

Fr. 4 (20.36 g) 经MCI柱色谱 (40%～100%, 甲醇−水) 梯度洗脱得到10个流分Fr. 4-1～Fr. 4-10。Fr. 4-3 (6.39 g) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷−甲醇, 100∶1～0∶100) 梯度洗脱得到12个流分Fr. 4-3-1～Fr. 4-3-12。Fr. 4-3-6 (2.93 g) 再通过硅胶柱色谱石油醚−乙酸乙酯洗脱得到17个流分Fr. 4-3-6-1～Fr. 4-3-6-17。Fr. 4-3-6-12 (582 mg) 通过硅胶柱色谱石油醚−乙酸乙酯洗脱得到14个流分Fr. 4-3-6-12-1～Fr. 4-3-6-12-14, Fr. 4-3-6-12-10 (67.2 mg) 通过半制备HPLC (40%甲醇, 3 mL·min^{-1}) 分离得到化合物**4** (5.7 mg, t_R = 11.82 min)。

Fr. 5 (22 g) 经MCI柱色谱 (40%～100%, 甲醇−水) 梯度洗脱得到14个流分Fr. 5-1～Fr. 5-14。Fr. 5-4 (1.18 g) 经Sephadex LH-20凝胶柱色谱 (甲醇) 洗脱得到12个流分Fr. 5-4-1～Fr. 5-4-12。Fr. 5-4-10 (79 mg) 通过半制备HPLC (30%甲醇, 3 mL·min^{-1}) 分离得到化合物**6** (9.3 mg, t_R = 7.15 min)。Fr. 5-4-6 (487 mg) 通过硅胶柱色谱 (二氯甲烷−甲醇, 100∶1～0∶100) 梯度洗脱得到10个流分Fr. 5-4-6-1～Fr. 5-4-6-10。Fr. 5-4-6-3 (110.5 mg) 通过Sephadex LH-20凝胶柱色谱 (甲醇) 洗脱得到7个流分Fr. 5-4-6-3-1～Fr. 5-4-6-3-7。Fr. 5-4-6-3-4 (78.7 mg) 半制备HPLC (20%甲醇, 3 mL·min^{-1}) 分离得到化合物**1** (6.3 mg, t_R = 10.32 min)。Fr. 5-6 (487 mg) 通过 (二氯甲烷−甲醇, 100∶1～0∶100) 梯度洗脱得到9个流分Fr. 5-6-3～Fr. 5-6-9。Fr. 5-6-3 (40.5 mg) 通过半制备HPLC (45%甲醇, 3 mL·min^{-1}) 分离得到化合物**2** (2.8 mg, t_R = 8.99 min)。Fr. 5-8 (521 mg) 通过硅胶柱 (二氯甲烷−甲醇, 100∶1～0∶100) 梯度洗脱得到10个流分Fr. 5-8-1～Fr. 5-8-10。Fr. 5-8-4 (67.8 mg) 经过Sephadex LH-20凝胶柱色谱用三氯甲烷−甲醇 (1∶1) 洗脱得到4个流分Fr. 5-8-4-1～Fr. 5-8-4-4。Fr. 5-8-4-2 (29.1 mg) 半制备HPLC (40%甲醇, 3 mL·min^{-1}) 分离得到化合物**5** (0.7 mg, t_R = 35.88 min)。Fr. 5-8-3 (142.7 mg) 经过Sephadex LH-20凝胶柱色谱用三氯甲烷−甲醇 (1∶1) 洗脱得到4个流分Fr. 5-8-3-1～Fr. 5-8-3-4。Fr. 5-8-3-2 (76 mg) 经过硅胶柱色谱用石油醚−丙酮梯度洗脱得到7个流分Fr. 5-8-3-2-1～Fr. 5-8-3-2-7。Fr. 5-8-3-2-6 (8.2 mg) 半制备HPLC (35%甲醇, 3 mL·min^{-1}) 分离得到化合物**3** (1.5 mg, t_R = 19.87 min)。

2 结构鉴定

化合物**2** 无色胶状物质, 香草醛−浓硫酸反应 (TLC) 斑点显灰色, HR-ESI-MS *m*/*z* 401.119 7 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{19}H_{22}O_8$; ^{1}H NMR (600 MHz, DMSO-d_6) δ_H 9.85 (1H, s, 7′-CHO), 8.77 (1H, s, 4-OH), 7.21 (2H, s, H-2′,6′), 6.91 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2), 6.73 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.9 Hz, H-6), 6.68 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 5.19 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, 7-OH), 4.77 (1H, t, *J* = 5.0 Hz, H-7), 4.42 (1H, m, H-8), 4.16 (1H, t, *J* = 5.8 Hz, 9-OH), 3.83 (6H, s, 3′,5′-OCH_3), 3.73 (3H, s, 3-OCH_3), 3.71 (1H, m, H-9b), 3.51 (1H, m, H-9a); ^{13}C NMR(150 MHz, DMSO-d_6) δ_C 133.2 (C-1), 110.9 (C-2), 147.0 (C-3), 145.4 (C-4), 114.6 (C-5), 119.4 (C-6), 72.2 (C-7), 86.5 (C-8), 60.3 (C-9), 130.9 (C-1′), 106.8 (C-2′,6′), 152.9 (C-3′,5′), 141.8 (C-4′), 191.7 (C-7′), 55.5 (3-OCH_3), 56.1 (3′,5′-OCH_3)。以上数据跟文献[13]报道的基本一致, 故鉴定化合物**2**为 (7*S*,8*R*)-4-hydroxy-3,3′,5′-trimethoxy-8,9-dinor-8,4′-oxyneoligna-7,9-diol-7′-aldehyde。

化合物**3** 淡黄色油状物质, 香草醛−浓硫酸反应 (TLC) 斑点显灰色, HR-ESI-MS *m*/*z* 427.135 1 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{21}H_{24}O_8$; ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 9.63 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, 9′-CHO), 7.60 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-7′), 7.01 (2H, s, H-2′,6′), 6.98 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.79 (1H, m, overlapped, H-6), 6.75 (1H, dd, *J* = 15.8, 7.8 Hz, H-8′), 6.73 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 4.91 (1H, d, *J* = 5.4 Hz, H-7), 4.39 (1H, td, *J* = 5.4, 3.5 Hz, H-8), 3.92 (1H, dd, *J* = 12.1, 5.4 Hz, H-9b), 3.87 (6H, s, 3′,5′-OCH_3), 3.82 (3H, s, 3-OCH_3), 3.64 (1H, dd, *J* = 12.1, 3.5 Hz, H-9a); ^{13}C NMR(150 MHz, CD_3OD) δ_C 133.8 (C-1), 111.5 (C-2), 148.7 (C-3), 146.9 (C-4), 115.7 (C-5), 120.8 (C-6), 74.2 (C-7), 87.5 (C-8), 61.8 (C-9), 131.4 (C-1′), 107.3 (C-2′,6′), 154.8 (C-3′,5′), 140.0 (C-4′), 155.2 (C-7′), 129.0 (C-8′), 196.0 (C-9′), 56.3 (3-OCH_3), 56.8 (3′,5′-OCH_3)。以上数据跟文献[14]报道的基本一致, 故鉴定化合物**3**为armaosigenin。

化合物**4** 棕色无定形粉末, 香草醛−浓硫酸反应 (TLC) 斑点显淡紫色, HR-ESI-MS *m*/*z* 319.116 9 $[M+H]^+$, 分子式为$C_{17}H_{18}O_6$; ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.61 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-4), 7.56 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.89 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2′), 6.78 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3), 6.76 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, H-6′), 6.72 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5′), 4.75 (1H, dd, *J* = 8.7, 5.2 Hz, H-8), 4.24 (1H, dd, *J* = 10.7, 8.7 Hz, H-9b), 3.86 (3H, s, 5-OCH_3), 3.82 (3H, s, 3′-OCH_3), 3.71 (1H, dd, *J* = 10.7, 5.2 Hz, H-9a); ^{13}C NMR(150 MHz, CD_3OD) δ_C 130.1 (C-1), 153.8 (C-2), 115.8 (C-3), 125.3 (C-4), 149.3 (C-5), 112.7 (C-6), 199.6 (C-7), 56.2 (C-8), 65.5 (C-9), 129.9 (C-1′), 112.5 (C-2′), 147.0 (C-3′), 149.1 (C-4′), 116.6 (C-5′), 122.2 (C-6′), 56.4 (5-OCH_3), 56.3 (3′-OCH_3)。以上数据跟文献[15]报道的基本一致, 故鉴定化合物**4**为 (−) evofolin B。

化合物**5** 黄色无定形粉末, HR-ESI-MS *m*/*z*

321.124 7 [M+H-H_2O]$^-$, 分子式为$C_{18}H_{19}NO_4$; ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.43 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-8), 7.12 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 7.05 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2′,6′), 7.02 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 6.79 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.72 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3′,5′), 6.40 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-7), 3.89 (3H, s, 3-OCH_3), 3.47 (2H, t, J = 7.4 Hz, Hz, H-8′), 2.76 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-7′); ^{13}C NMR(150 MHz, CD_3OD) δ_C 128.4 (C-1), 111.7 (C-2), 149.5 (C-3), 149.5 (C-4), 116.6 (C-5), 123.4 (C-6), 142.3 (C-7), 118.8 (C-8), 170.6 (C-9), 131.5 (C-1′), 130.8 (C-2′,6′), 116.4 (C-3′,5′), 154.1 (C-4′), 35.9 (C-7′), 42.7 (C-8′), 56.5 (3-OCH_3)。以上数据跟文献[16]报道的基本一致, 故鉴定化合物**5**为*N*-反式阿魏酸酪酰胺。

化合物**6** 橙黄色固体, HR-ESI-MS *m*/*z* 213.075 3 [M+H]$^+$, 分子式为$C_{10}H_{12}O_5$; ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 7.58 (1H, dd, J = 8.3, 2.1 Hz, H-2′), 7.56 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6′), 6.86 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5′), 5.13 (1H, dd, J = 5.2, 3.6 Hz, H-2), 3.90 (3H, s, 3′-OCH_3), 3.89 (1H, dd, J = 11.7, 3.6 Hz, H-3b), 3.73 (1H, dd, J = 11.7, 5.2 Hz, H-3a); ^{13}C NMR(150 MHz, CD_3OD) δ_C 199.7 (C-1), 75.6 (C-2), 66.6 (C-3), 127.5 (C-1′), 112.6 (C-2′), 149.9 (C-3′), 155.5 (C-4′), 116.5 (C-5′), 125.6 (C-6′), 56.6 (3′-OCH_3)。以上数据跟文献[17]报道的基本一致, 故鉴定化合物**6**为*C*-藜芦酰乙二醇。

3 抗氧化活性研究

3.1 DPPH自由基清除活性 参考文献[18]报道的方法, 精密称取3.94 mg DPPH粉末, 加入无水乙醇配制成浓度为0.1 mmol·L^{-1}的工作液备用 (吸光度在0.9～1.0之间)。精密吸取40 μL不同浓度的待测样品溶液 (300、200、100、50、25、10 μg·mL^{-1}) 加入96孔板中, 随后加入160 μL DPPH溶液, 在室温下避光反应30 min。在517 nm波长下测得的吸光度记为 (A_1), 以160 μL无水乙醇替代DPPH乙醇溶液测得的吸光度记为 (A_2), 以40 μL无水乙醇替代样品溶液测得的吸光度记为 (A_0)。同时, 以相同浓度的维生素C作为对照, 每个浓度平行测定3次。根据公式计算样品对DPPH自由基的清除率, 其清除能力用IC_{50}表示, 清除率计算见公式 (1)。

$$DPPH\text{•}清除率=[1-(A_1-A_2)/A_0]\times100\% \quad (1)$$

3.2 ABTS自由基清除活性 参考文献[19]报道的方法, 将7 mmol·L^{-1} ABTS与2.45 mmol·L^{-1}过硫酸钾等体积混合, 在室温且避光的条件下反应14～18 h。第二天, 使用无水乙醇进行稀释, 稀释倍数约为20～40倍, 摇匀后静置10 min, ABTS工作液即配制完成 (吸光度约为0.7)。精密吸取40 μL不同浓度的待测样品溶液 (300、200、100、50、25、10 μg·mL^{-1}), 加入到96孔板中, 随后加入160 μL ABTS溶液, 在室温下避光反应30 min。在734 nm波长下测得的吸光度记为 (A_3), 以160 μL无水乙醇替代ABTS溶液测得的吸光度记为 (A_4); 以40 μL无水乙醇替代样品溶液测得的吸光度记为 (A_5)。同时, 以相同浓度的维生素C作为对照, 每个浓度平行测定3次。根据公式计算样品对ABTS自由基的清除率, 其清除能力用IC_{50}表示, 清除率计算见公式 (2)。

$$ABTS\text{•}清除率=[1-(A_3-A_4)/A_5]\times100\% \quad (2)$$

3.3 数据处理 采用GraphPad Prism 9.5.1统计软件进行数据分析, 数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 所有实验均重复3次, 计算半数抑制浓度。

作者贡献: 蒋飘飘为本文第一作者, 负责化合物的分离、鉴定、抗氧化活性测定和文章撰写; 匡南和曾诚坤对提取分离提供了一定帮助; 向红辉、王汝琴和唐秋云提供了实验所需的药材; 袁汉文和江星明老师对于结构鉴定提供了一定的帮助; 李斌教授负责实验设计、结构解析及稿件修改等工作; 王炜教授对杜仲进行鉴定。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

[1] Gao HW, Li YP, Li SC, et al. Study advances in chemical constituents and pharmacological effects of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. Inf Tradit Chin Med (中医药信息), 2021, 38: 73-81.

[2] Peng MF, Zhou YH, Liu BS, et al. Biological properties and potential application of extracts and compounds from different medicinal parts (bark, leaf, staminate flower, and seed) of *Eucommia ulmoides*: A review [J]. Heliyon, 2024, 10: e27870.

[3] Zhang M, Liang FN, Sun YW, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and clinical application of *Eucommia ulmoides* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 4740-4761.

[4] Li WY, Zhang JX, Xie XW, et al. Research progress on chemical components, pharmacological activities and modern applications of *Eucommia folium* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2024, 36: 900-917.

[5] Zeng M, Long YQ, Zeng J, et al. Comparison of chemical constituents in different parts of *Eucommia cortex* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2023, 45: 1184-1194.

[6] He XR, Wang JH, Li MX, et al. *Eucommia ulmoides* Oliv.: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 151: 78-92.

[7] Hu Y, Li XZ, Liu Y, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and applications of *Eucommia ulmoides* [J]. Asia Pac Tradit Med (亚太传统医药), 2022, 18: 234-239.

[8] Zhang RZ, Li Q, Pei J, et al. Overview of chemical components and pharmacological effects of *Eucommia ulmoides* [J]. J Shaanxi Univ Tradit Chin Med (陕西中医药大学学报), 2024, 47: 87-91.

[9] Zdero C, Lehmann L, Bohlmann F. Chemotaxonomy of *Athanasia* and related genera [J]. Phytochemistry, 1991, 30: 1161-1163.

[10] Tietze LF, Wolfram T, Holstein JJ, et al. First enantioselective total synthesis of (+) - (*R*) -pinnatolide using an asymmetric domino allylation reaction [J]. Org Lett, 2012, 14: 4035-4037.

[11] Chen JF, Liu F, Qiao MM, et al. Vasorelaxant effect of curcusubabanin A isolated from *Curcuma longa* through the PI3K/Akt/eNOS signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 294: 115332.

[12] Cank KB, Shepherd RA, Knowles SL, et al. Polychlorinated cyclopentenes from a marine derived *Periconia* sp. (strain G1144) [J]. Phytochemistry, 2022, 199: 113200.

[13] Wang L, Zou K, Zhang QQ, et al. Study on chemical constituents of *Rhododendron auriculatum* [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2016, 27: 1818-1820.

[14] Liang S, Shen YH, Tian JM, et al. Phenylpropanoids from *Daphne feddei* and their inhibitory activities against NO production [J]. J Nat Prod, 2008, 71: 1902-1905.

[15] Rahman MA, Moon SS. Isoetin 5′-methyl ether: A cytotoxic flavone from *Trichosanthes kirilowii* [J]. Bull Korean Chem Soc, 2007, 28: 1261-1264.

[16] Wu CH, Chen Y, Li XX, et al. Isolation and structural identification of chemical constituents from *Acorus tatarinowii* [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2014, 24: 209-213.

[17] Baderschneider B, Winterhalter P. Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49: 2788-2798.

[18] Cheng HJ, Zhang J, Liu XY, et al. Chemical constituents and antioxidant activity of *Viburnum rhytidophyllum* Hemsl [J]. Mod Food Sci Technol (现代食品科技), 2024, 40: 168-177.

[19] Liu XM, Zhao JM, Lan JH, et al. Chemical constituents from fruits of *Tribulus terrestrer* and their antioxidant activity [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 4774-4779.