活性追踪发现枫香中抗纤维化活性松香烷型二萜

张 玲[1], 刘 静[2], 陶诚天[2], 王攀登[2], 程永现[1,2*]

(1. 广东药科大学药学院, 广东 广州 510240; 2. 深圳大学医学部药学院, 中医药守正创新研究院, 广东省中药有效成分与肠道微生物组学重点实验室, 广东 深圳 518060)

摘要: 运用活性追踪法对枫香提取物进行抗肾纤维化活性筛选, 定位到具有活性的目标组分; 对活性组分进一步分离纯化, 从中得到7个松香烷型二萜类单体化合物, 包括1个新化合物枫香烷A (liquidformosane A, **1**) 和6个已知化合物。运用核磁共振波谱 (NMR) 确定了新化合物的平面结构, 并通过量子化学计算模拟预测电子圆二色谱 (ECD), 进而确定其立体构型。Western blot方法评估了化合物**1**～**7**的体外抗肾脏纤维化活性, 结果发现, 化合物**5**～**7**均具有显著的抗肾脏纤维化活性。

关键词: 枫香; 活性追踪; 松香烷型二萜; 肾纤维化

中图分类号: R284 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)08-3116-07

Anti-renal fibrosis bioactivity-guided isolation and identification of abietane-type diterpenoids from *Liquidambar formosana*

ZHANG Ling[1], LIU Jing[2], TAO Cheng-tian[2], WANG Pan-deng[2], CHENG Yong-xian[1,2*]

(*1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510240, 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: Anti-renal fibrosis activity screening was performed on the extracts of *Liquidambar formosana via* the activity-tracing approach, which led to the identification of the bioactive fractions. Subsequent separation and purification afforded seven abietane-type diterpenoids, including one new diterpenoid, liquidformosane A (**1**) and six known ones. The planar structure of the new compound was established by nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR), and its stereoconfiguration was confirmed by quantum chemical calculations for simulation and prediction of electronic circular dichroism (ECD) spectra. The Western blot method was used to evaluate the *in vitro* anti-renal fibrosis activity of compounds **1**－**7**, and the results showed that compounds **5**－**7** all exhibited significant anti-renal fibrosis activity.

Key words: *Liquidambar formosana*; activity-guided; abietane-type diterpenoid; renal fibrosis

慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 已成为全球性的重大公共卫生问题, 该疾病影响着全球10%～14%的人口, 且患病率呈持续上升趋势[1]。肾纤维化是慢性肾病进展中的关键病理过程, 表现为肾脏内细胞外基质的过度沉积, 致使组织结构永久性损害和功能丧失[2], 导致患者出现进行性肾功能丧失, 带来沉重的经济和心理负担。但目前仍极度缺乏特异性抗肾纤维化药物[3], 迫切需要发现更多新的具有抗肾纤维化活性的化合物, 为后续开发相关药物提供基础。

枫香脂为金缕梅科植物枫香树的干燥树脂, 具有活血止痛、解毒生肌等功效, 常用于治疗跌扑损伤、痈

收稿日期: 2026-03-31; 修回日期: 2026-06-11.
基金项目: 深圳市基础研究重点项目 (JCYJ20200109114003921).
*通讯作者 Tel: 86-755-86674633, E-mail: yxcheng@szu.edu.cn
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2026-0355

疽肿痛等疾病[4]。枫香脂临床应用较广, 单用或与其他药物配伍使用均有良效。枫香脂的核心功效是活血化瘀、止血止痛、解毒生肌[5], 根据中医治则治法提示其可能具有抗纤维化功效。因此, 本实验通过活性追踪法对枫香的提取物进行了抗肾脏纤维化活性筛选, 确定了具有生物活性的目标组分。对该生物活性组分进行后续分离和纯化, 得到了7个松香烷型二萜类化合物, 其中包括1个新化合物和6个已知化合物 (图1)。

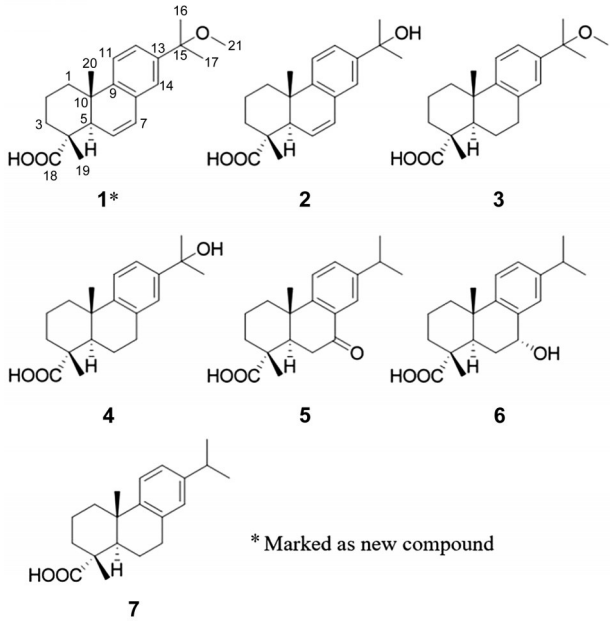


Figure 1　Structures of compounds **1**−**7**

结果与讨论

1　结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末。根据准分子离子峰 HRESIMS *m/z* 329.212 0 $[M+H]^+$, (计算值为329.211 1, $C_{21}H_{29}O_3$)、^{13}C NMR 和 DEPT 谱, 推断该化合物的分子式为 $C_{21}H_{28}O_3$, 不饱和度为8。根据 ^1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) 谱 (表1), 芳香氢质子信号 [δ_H 7.12 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-11), 7.22 (1H, dd, J = 8.1, 2.0 Hz, H-12), 7.07 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-14)] 提示有一组 ABX 系统的苯环存在, 两个烯烃质子的共振信号 [δ_H 5.81 (1H, dd, J = 9.5, 2.9 Hz, H-6), 6.55 (1H, dd, J = 9.5, 2.9 Hz, H-7)], 4个甲基信号峰 [δ_H 1.51 (6H, s, H-15, H-16), 1.41 (3H, s, H-19), 1.09 (3H, s, H-20)] 和1个甲氧基信号峰 [δ_H 3.56 (3H, s, H-21)]。^{13}C NMR (表1) 和 DEPT 谱显示其有21个碳, 其中包括了5个甲基信号 (1个甲氧基), 3个亚甲基信号 (sp^3 杂化), 6个次甲基信号 (其中1个 sp^3 杂化, 5个 sp^2 杂化), 还包括7个非质子化碳 (包括1个羰基, 3个 sp^3 杂化和3个 sp^2 杂化)。这些特征表明, 化合物 **1** 可能是一种同时含有芳香环和双键的松香烷型二萜。通过对其二维核磁共振数据的详细分析鉴定了化合物 **1** 的结构。化合物 **1** 的 ^1H-^1H COSY 谱 (图2) 显示了 H-1 与 H-2 与 H-3、H-5 与 H-6 与 H-7 的相关性, HMBC 谱显示了 H_3-19 与 C-3、C-4、C-5 和 C-18 (δ_C 183.2) 的相关性, H_3-20 与 C-1、C-5、C-9 和 C-10 的相关性, H-5 与 C-1、C-3、C-4 和 C-5 的相关性, H-7 与 C-5、C-8 和 C-9 的相关性 (图2), 表明该化合物存在两个六元环 (A 和 B 环), 二者通过 C-5～C-10 位稠合在一起, 且 C-4 和 C-10 位分别连接有一个甲基。结合 C-7 (δ_C 130.0) 和 C-8 (δ_C 128.6) 的化学位移, 证明 C-7 和 C-8 之间还存在一对双键。此外, HMBC 谱显示了 H-11 与 C-8、C-10 和 C-13 的相关性, H-14 与 C-7、C-9、C-12 和 C-15 的相关性 (图2), 并结合其 ^1H NMR 存在的一个 ABX 系统, 表明存在一个三取代的苯环 C 环通过 C-8～C-9 稠合在 B 环上。进一步, HMBC 谱显示了 H_3-16 与 C-13、C-15 和 C-17 的相关性, H_3-21 与 C-15 的相关性 (图2), 并结合 C-15 (δ_C 76.7) 和 H_3-21 (δ_C 3.56) 化学位移, 表明 C-13 位有一个异丙基取代, 同时 C-15 位有一个甲氧基取代。综合以上核磁数据, 推导出化合物 **1** 的平面结构。

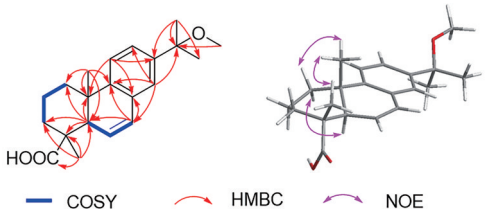


Figure 2　Key ^1H-^1H COSY, HMBC, and NOE correlations of **1**

根据其一维选择性照射 NOE 谱 (图2) 可以推断出该化合物 **1** 的相对构型。通过照射 H_3-20 和 H-5, 存在 H_3-20/H-1a, H_3-19, H-5/H-1b 之间的信号峰, 说明 H_3-20 和 H_3-19 处于相同侧, 并与 H-5 处于相反侧。因此, 确定了化合物 **1** 的相对构型。为了阐明其绝对构型, 采用了电子圆二色性 (ECD) 计算。如图3所示, 计算得到的 (4*R*,5*R*,10*S*)-**1** 的 ECD 谱与该化合物实验谱吻合良好, 因此可以推导出化合物 **1** 的绝对构型为4*R*, 5*R*,10*S*。由此鉴定了化合物 **1** 的结构, 并将其命名为枫香烷 A (liquidformosane A)。

2　体外抗肾脏纤维化活性研究

对所有分离出的化合物进行抗肾脏纤维化活性筛选。为了排除化合物的细胞毒性可能对其生物学效应检测的影响, 首先进行了 CCK-8 实验, 结果显示, 所有化合物在 20 μmol·L^{-1} 浓度下对大鼠肾近曲小管细胞 (NRK-52E) 及大鼠正常肾成纤维细胞 (NRK-49F) 均无毒性 (图4A、C)。随后, 在 20 μmol·L^{-1} 浓度下使用化

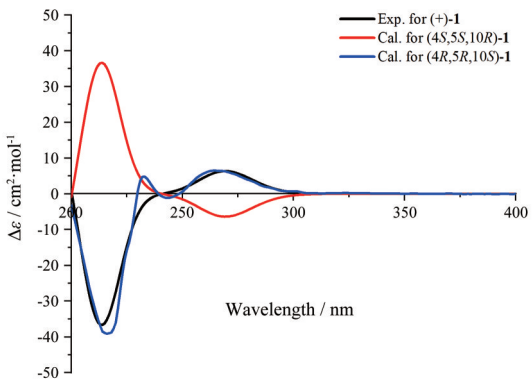


Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra for compound **1**

合物**1**～**7**分别处理TGF-β1诱导的NRK-52E、NRK-49F细胞，以进一步确定化合物的抗纤维化作用。结果表明，在NRK-52E细胞中，化合物**4**～**7**在20 μmol·L^{-1}浓度下对纤连蛋白 (fibronectin) 表现出明显的抑制作用，化合物**5**～**7**在20 μmol·L^{-1}浓度下能明显降低胶原蛋白I (collagen I) 和α-平滑肌肌动蛋白 (α-SMA) 的表达。综合来看，化合物**5**～**7**能明显降低3种蛋白表达。在NRK-49F细胞中，化合物**5**～**7**在20 μmol·L^{-1}浓度下显著降低纤连蛋白、胶原蛋白I和α-SMA的表达。

综合来看，两类细胞对化合物的敏感趋势基本一致 (图5)，即**5**～**7**号化合物对纤连蛋白、胶原蛋白I和

Table 1 ^{1}H (600 MHz), ^{13}C NMR (150 MHz) data of **1** (δ in ppm, J in Hz)

No.	δ_H	δc	No.	δ_H	δc
1	Ha: 2.20, dt (12.8, 3.0)	35.4, CH_2	11	7.12, d (8.1)	121.7, CH
	Hb: 1.73, m		12	7.22, dd (8.1, 2.0)	125.4, CH
2	1.81, m	18.5, CH_2	13		143.5, C
3	Ha: 1.82, m	35.8, CH_2	14	7.07, d (2.0)	124.3, CH
	Hb: 1.76, m		15		76.7, C
4		46.2, C	16	1.51, s	28.0, CH_3
5	2.92, t (2.9)	46.5, CH	17	1.51, s	28.1, CH_3
6	5.81, dd (9.5, 2.9)	130.0, CH	18		183.2, C
7	6.55, dd (9.5, 2.9)	128.6, CH	19	1.41, s	17.8, CH_3
8		132.6, C	20	1.09, s	20.9, CH_3
9		146.2, C	21	3.06, s	50.8, CH_3
10		37.3, C			

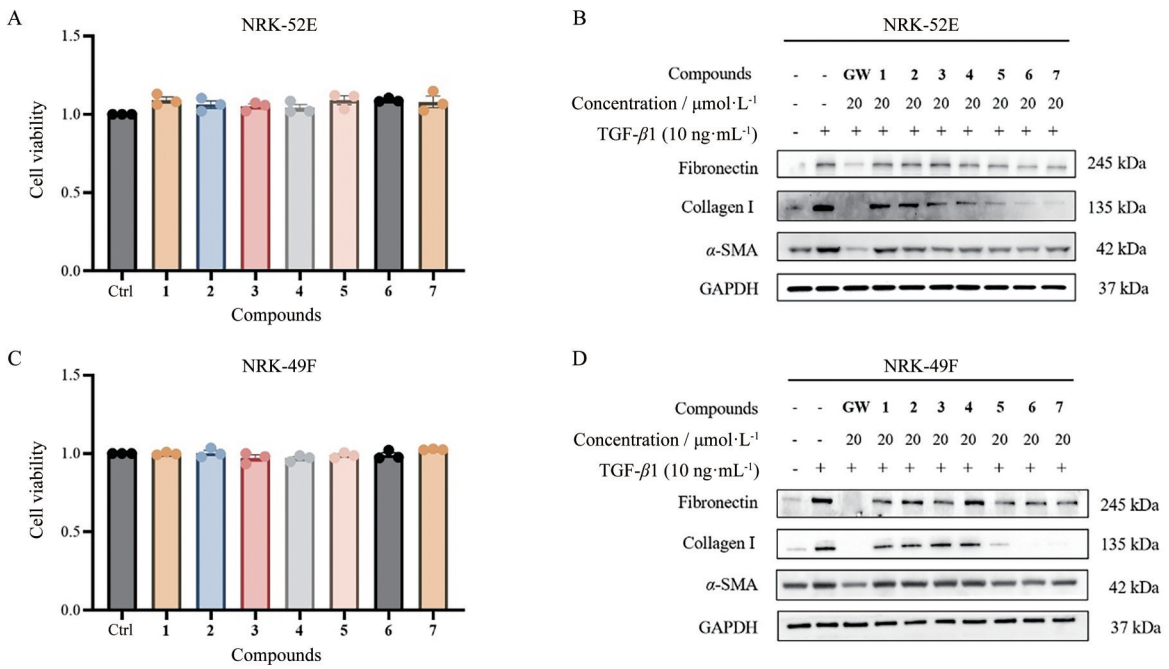


Figure 4 The cytotoxicity and anti-renal fibrosis activity of compounds **1**−**7**. Dose-response relationships of compounds compounds **1**−**7** in NRK-52E (A) and NRK-49F cells (C) *via* CCK-8 assay (20 μmol·L^{-1}, 48 h). Effects of compounds **1**−**7** on fibronectin, collagen I, and α-smooth muscle actin (α-SMA) expression in NRK-52E (B) and NRK-49F cells (D) by Western blot (20 μmol·L^{-1}, 48 h). GW788388 (GW) was used as a positive control

α-SMA均有显著抑制作用且呈剂量依赖关系 (图6)。化合物**4**在NRK-52E细胞中对3种蛋白的抑制作用强于NRK-49F细胞, 显示出一定的细胞类型选择性 (图4B、D)。

3　讨论

我国著名中医肾病学家张大宁教授认为肾虚血瘀是各类慢性肾脏病 (或某些特定阶段) 共同的病理机制, 肾虚、血瘀并不是孤立存在, 而是互相影响, 肾虚必兼血瘀[6]。枫香脂的核心功效是活血化瘀、止血止痛、解毒生肌[5]。其活血作用能够疏通瘀滞的肾络, 改善肾脏的微循环, 为受损组织的修复创造条件。这与现代医学中改善肾脏血流动力学、抑制微血管损伤的思路不谋而合。本实验通过活性追踪法对枫香的提取物进行了抗肾脏纤维化活性筛选。活性追踪法的核心思想为对具有药理活性的目标成分进行化学分离, 广泛应用于寻找特异性分子靶向药物及药物先导物发现, 具有靶向性强、效率高、周期短的优点, 并且由于分离目标完全是活性而非已知化合物, 因此更容易发现结构新颖但含量微小的天然活性产物。通过活性追踪法, 我们共发现3个具有抗肾纤维化活性的组分, 并对活性组分进行了分离纯化, 共得到7个化合物, 包括1个新化合物及6个已知化合物。随后对化合物**1**～**7**

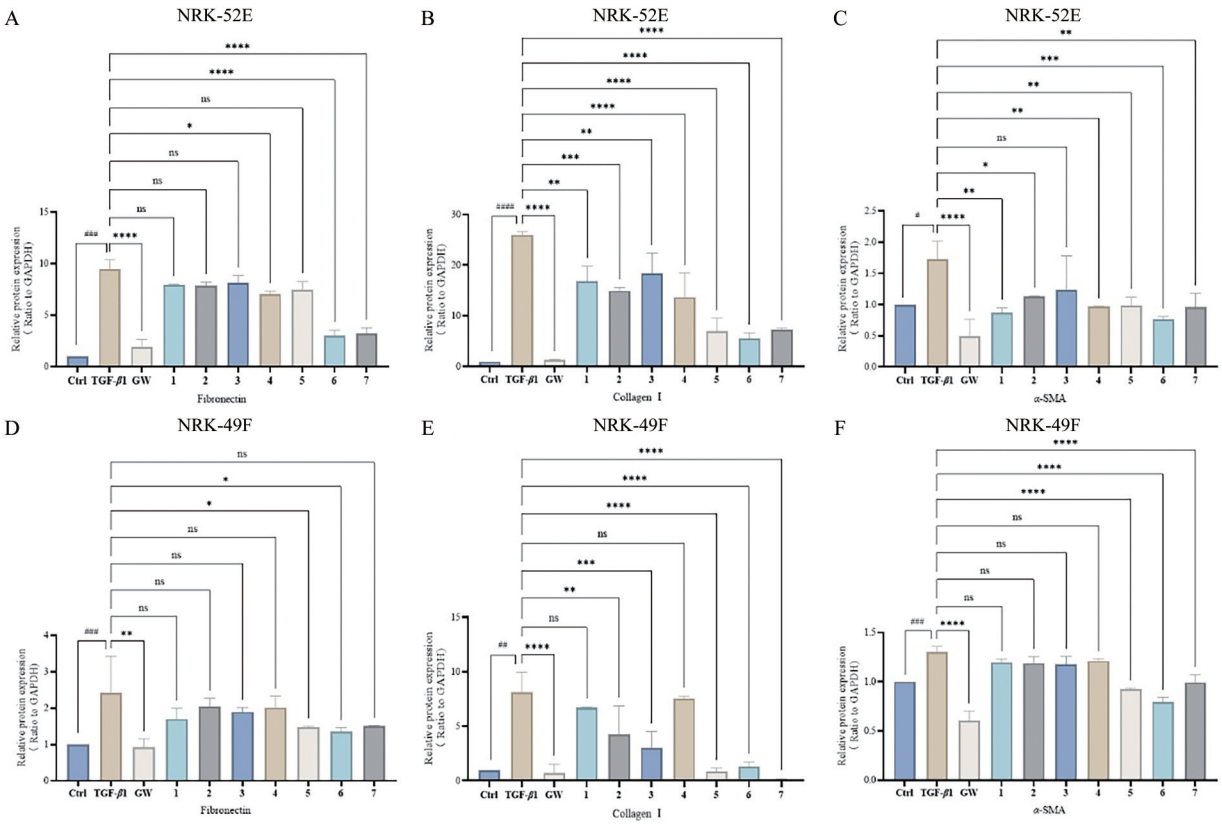


Figure 5　The effects of compounds **1**−**7** (20 μmol·L^{-1}, 48 h) on the expression of kidney fibrosis-related proteins in NRK-52E (A, B, C) and NRK-49F (D, E, F) cells. The results are represented as mean ± SEM, $n \geqslant 3$, one-way ANOVA. $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$, $^{\#\#\#}P < 0.001$, $^{\#\#\#\#}P <$ 0.000 1 *vs* DMSO treated group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P <$ 0.000 1 *vs* TGF-β1 treated group

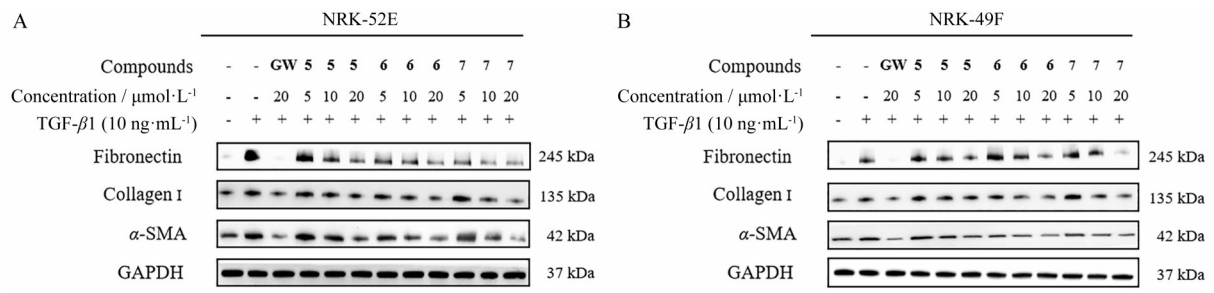


Figure 6　Dose-response relationships of compounds **5**−**7** in NRK-52E (A) and NRK-49F cells (B). Representative Western blot bands showing the effects of these compounds on the expression of fibronectin, collagen I, and α-SMA at different concentrations in NRK-52E and NRK-49F cells

进行抗肾脏纤维化活性检测, 发现化合物**5**～**7**能显著降低纤连蛋白、胶原蛋白I和α-SMA蛋白的表达, 提示其在治疗肾脏纤维化方面可能具有价值。

实验部分

赛谱锐思SP-5030型半制备液相色谱仪和半制备用SEP Basic C18色谱柱 (250 mm × 10 mm, 5 μm, 120 Å), 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 (日本JASCO公司); Bruker AV-600 MHz光谱仪 (TMS做内标, 德国Bruker公司); SCIEX X500R QTOF高分辨质谱仪 (美国AB SCIEX公司); 制备用YMC-Pack ODS-A色谱柱 (250 mm × 20 mm, S-5 μm, 12 nm, 日本YMC公司); 制备薄层色谱 (PTLC) 采用青岛海洋化工有限公司生产的硅胶GF254板进行分离。

枫香树树脂购自中国云南省迪庆藏族自治州维西傈僳族自治县当地农户, 产地地理坐标为北纬26°53′～28°02′、东经98°54′～99°34′, 该树脂于2018年7月采自上述产地, 由云南中医药大学邱斌教授鉴定。凭证标本 (编号CHYX0671) 现保存于深圳大学药学院。

1 提取分离

取枫香树脂50.0 g, 粉碎后采用乙酸乙酯超声提取 (200 mL × 3, 每次4 h)。提取过程中样品完全溶解, 合并提取液浓缩, 得到浸膏50.0 g。将浸膏用甲醇溶解后用微孔滤膜过滤并离心, 随后用制备液相, 色谱条件: YMC-Pack ODS-A色谱柱, 检测波长254和210 nm; 柱温室温, 30%～100%乙腈梯度洗脱120 min, 流速7 mL·min^{-1}, 进行组分制备。8 min首个溶剂峰出峰后开始分段收集流出液, 按每5 min分段接收。上述分离流程重复制备13次, 合并相同时间段馏分, 最终得到FX-1～FX-31共31个组分。

对制备分离得到的31个组分进行抗肾纤维化活性初筛, 对于活性显著组分首先进行HPLC和TLC检测, 对于成分相似的段落, 合并后进一步分离纯化, 获得单一活性化合物; 并采用NMR和ECD等波谱技术完成化合物结构及立体构型鉴定。活性组分FX-9 (421.1 mg) 用半制备高效液相色谱 (HPLC), 色谱条件: SEP Basic C18色谱柱 (250 mm × 10 mm, 5 μm, 120 Å), 检测波长210和254 nm; 柱温室温, 流动相 (甲醇−水−甲酸, 68∶32∶0.04; 流速: 3.0 mL·min^{-1}) 分离得到2个组分FX-9-1 (t_R = 30.6 min) 和FX-9-2 (t_R = 32.6 min)。FX-9-1用制备型薄层色谱 (石油醚−丙酮, 3∶2), 单次展开50 min, 分离得化合物**1** (3.5 mg, R_f = 0.35) 和**2** (7.8 mg, R_f = 0.45)。FX-9-2同条件经制备薄层色谱纯化, 分离得化合物**3** (35.2 mg, R_f = 0.30) 和**4** (60.9 mg, R_f = 0.40)。活性组分FX-14 (233.4 mg) 用半制备型SEP Basic C18色谱柱, 检测波长210和254 nm; 柱温室温, 流动相 (甲醇−水−甲酸, 80∶20∶0.04; 流速: 3.0 mL·min^{-1}) 分离纯化得到化合物**6** (7.5 mg, t_R = 22.6 min) 和**5** (8.6 mg, t_R = 32.1 min)。活性组分FX-18 (256.0 mg) 用半制备型SEP Basic C18色谱柱, 检测波长210和254 nm; 柱温室温, 流动相 (甲醇−水−甲酸, 78∶22∶0.04; 流速: 3.0 mL·min^{-1}) 分离纯化得到化合物**7** (40.7 mg, t_R = 40.1 min)。

2 结构鉴定

化合物**1**: 白色固体, $[\alpha]_D^{20}$ +45 (*c* 0.05, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε): 264 (2.58), 220 (3.09), 200 (3.01) nm; CD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$): 265 (+1.29), 244 (−0.23), 233 (+0.96), 216 (−7.77) nm; HRESIMS *m*/*z* 329.212 0 $[M+H]^+$ (计算值为329.211 1, $C_{21}H_{29}O_3$); ^{1}H和^{13}C NMR数据见表1。

化合物**2**: 白色固体, HRESIMS *m*/*z* 315.195 8 $[M+H]^+$, 分子式为$C_{20}H_{26}O_3$, ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 1.08 (3H, s, Me-20), 1.40 (3H, s, Me-19), 1.57 (3H, br s, Me-16), 1.57 (3H, br s, Me-17), 2.91 (1H, t, *J* = 2.9 Hz, H-5), 5.82 (1H, dd, *J* = 9.5, 2.9 Hz, H-6), 6.55 (1H, dd, *J* = 9.5,2.9 Hz, H-7), 7.13 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-11), 7.30 (1H, dd, *J* = 8.1, 2.1 Hz, H-12), 7.17 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-14); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 35.4 (C-1),18.4 (C-2), 35.8 (C-3), 46.2 (C-4), 46.5 (C-5), 130.2 (C-6), 128.5 (C-7), 132.6 (C-8), 146.1 (C-9), 37.3 (C-10), 121.8 (C-11), 123.9 (C-12), 146.8 (C-13), 122.9 (C-14), 72.6 (C-15), 31.8 (C-16), 31.8 (C-17), 183.7 (C-18), 17.8 (C-19), 20.8 (C-20)。以上数据与文献[7]报道基本一致, 故确定化合物**2**为15-hydroxy-6-en-dehydroabietic acid。

化合物**3**: 白色固体, HRESIMS *m*/*z* 331.190 6 $[M+H]^+$, 分子式为$C_{21}H_{30}O_3$, ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 1.22 (3H, s, Me-20), 1.29 (3H, s, Me-19), 1.50 (3H, br s, Me-16), 1.50 (3H, br s, Me-17), 3.06 (3H, s, MeO-21), 7.21 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-11), 7.15 (1H, dd, *J* = 8.3, 2.1 Hz, H-12), 7.04 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-14); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_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), 30.2 (C-7), 134.7 (C-8), 148.0 (C-9), 37.0 (C-10), 124.2 (C-11), 123.5 (C-12), 142.7 (C-13), 126.5 (C-14), 76.8 (C-15), 28.1 (C-16), 28.0 (C-17), 185.1 (C-18), 16.4 (C-19), 25.2 (C-20), 50.8 (C-21)。以上数据与文献[8]报道基本一致, 故确定化合物**3**为15-methoxydehydroabietic acid。

化合物**4**: 白色固体, HRESIMS *m*/*z* 317.211 1 $[M+H]^+$, 分子式为$C_{20}H_{28}O_3$, ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H

1.22 (3H, s, Me-20), 1.29 (3H, s, Me-19),1.56 (3H, br s, Me-16), 1.56 (3H, br s, Me-17), 7.22 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-11), 7.20 (1H, dd, J = 8.3, 1.9 Hz, H-12), 7.15 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-14); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 38.0 (C-1), 18.6 (C-2), 36.8 (C-3), 47.5 (C-4), 44.7 (C-5), 21.8 (C-6), 30.2 (C-7), 134.9 (C-8), 148.0 (C-9), 37.0 (C-10), 124.3 (C-11), 122.1 (C-12), 146.1 (C-13), 125.0 (C-14), 72.6 (C-15), 31.7 (C-16), 31.7 (C-17), 184.7 (C-18), 16.4 (C-19), 25.2 (C-20)。以上数据与文献[9]报道基本一致, 故确定化合物**4**为15-hydroxydehydroabietic acid。

化合物**5**: 白色固体, HRESIMS m/z 315.194 1 [M+H]$^+$, 分子式为$C_{20}H_{26}O_3$, ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 1.26 (3H, s, Me-20), 1.35 (3H, s, Me-19), 1.24 (3H, d, J = 7.0 Hz, Me-16), 1.23 (3H, d, J = 7.0 Hz, Me-17), 7.29 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-11), 7.40 (1H, dd, J = 8.2, 2.2 Hz, H-12), 7.87 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-14); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 37.4 (C-1), 18.3 (C-2), 36.6 (C-3), 46.5 (C-4), 43.7 (C-5), 37.9 (C-6), 199.1 (C-7), 130.7 (C-8), 153.1 (C-9), 37.2 (C-10), 123.6 (C-11), 132.9 (C-12), 147.1 (C-13), 125.3 (C-14), 33.7 (C-15), 24.0 (C-16), 23.9 (C-17), 183.3 (C-18), 16.3 (C-19), 23.8 (C-20)。以上数据与文献[10]报道基本一致, 故确定化合物**5**为7-oxodehydroabietic acid。

化合物**6**: 白色固体, HRESIMS m/z 339.193 1 [M+Na]$^+$, 分子式为$C_{20}H_{28}O_3$, ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 1.17 (3H, s, Me-20), 1.28 (3H, s, Me-19), 1.23 (3H, d, J = 6.9 Hz, Me-16), 1.23 (3H, d, J = 6.9 Hz, Me-17), 4.82 (1H, dd, J = 4.2, 1.6 Hz, H-7), 7.19 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-11), 7.13 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-12), 7.21 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-14); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 37.8 (C-1), 18.7 (C-2), 36.4 (C-3), 47.2 (C-4), 39.9 (C-5), 31.0 (C-6), 68.4 (C-7), 135.8 (C-8), 146.7 (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), 24.2 (C-16), 24.3 (C-17), 182.7 (C-18), 16.4 (C-19), 24.0 (C-20)。以上数据与文献[11]报道基本一致, 分子中7位α手性构型通过与已知文献数据对比确证, 故确定化合物**6**为7α-hydroxydehydroabietic acid。

化合物**7**: 白色固体, HRESIMS m/z 301.216 4 [M+H]$^+$, 分子式为$C_{20}H_{28}O_2$, ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H 1.23 (3H, s, Me-20), 1.29 (3H, s, Me-19), 1.24 (3H, d, J = 7.1 Hz, Me-16), 1.24 (H, d, J = 7.1 Hz, Me-17), 7.18 (1H, d,J = 8.2 Hz, H-11), 7.01 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-12), 6.90 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-14); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C 38.0 (C-1), 18.7 (C-2), 36.8 (C-3), 47.6 (C-4), 44.7 (C-5), 21.9 (C-6), 30.1 (C-7), 134.8 (C-8), 146.9 (C-9), 37.0 (C-10), 124.2 (C-11), 124.0 (C-12), 145.8 (C-13), 127.0 (C-14), 33.6 (C-15), 24.1 (C-16), 24.1 (C-17), 185.3 (C-18), 16.3 (C-19), 25.3 (C-20)。以上数据与文献[12]报道基本一致, 故确定化合物**7**为dehydroabietic acid。

3　细胞活力测定

NRK-52E和NRK-49F细胞以每毫升2×10^{5}个细胞的密度接种于96孔板中, 并培养24 h以促进细胞附着。随后, 细胞用20 μmol·L^{-1}的化合物**1**～**7**处理48 h。细胞活力使用细胞计数试剂盒 (CCK-8, 美伦生物) 进行评估。无血清培养基与CCK-8试剂按1∶10的比例混合, 每孔加入100 μL混合液。然后, 将培养板在37 ℃下孵育1 h, 并使用酶标仪 (美国BioTek公司) 在450 nm波长处测定吸光度。

4　Western blot实验

NRK-52e细胞以每毫升2×10^{4}个细胞的密度接种于12孔板, 每孔1 mL培养基, 并培养24 h以促进贴壁。随后, 使用TGF-β1 (10 ng·mL^{-1}; MCE, HY-P7118) 刺激细胞, 分别向各孔中加入DMSO、GW (GW788388) 及化合物**1**～**7** (20 μmol·L^{-1}), 48 h后使用RIPA裂解缓冲液 (武汉赛维尔生物科技有限公司) 裂解细胞, 裂解液中添加蛋白酶抑制剂复合物 (MIKX) 和酸性酶抑制剂复合物 (YEASEN)。将蛋白提取物按浓度标准化后, 通过10% SDS-PAGE分离, 并转移至PVDF膜 (Immobilon-PSQ, 货号ISEQ00010)。将膜在含5%脱脂奶粉的TBST缓冲液中室温封闭1 h, 然后用特异性一抗孵育, 包括抗纤连蛋白 [EPR23110-46] (#ab268020; Abcam)、抗胶原蛋白I [EPR24331-53] (#ab270993; Abcam) 和抗α-平滑肌肌动蛋白 (#A2547; 美国Sigma-Aldrich公司) 和重组抗GAPDH (小鼠单抗, #GB15002, 武汉赛维尔生物科技有限公司)。充分洗涤后, 膜用二抗处理, 并通过化学发光检测系统 (美国Bio-Rad) 观察蛋白条带。

作者贡献: 张玲和陶诚天是本文的第一作者和第三作者, 负责生物活性的检测及论文初稿撰写; 刘静为本文的第二作者, 负责结构的分离鉴定及论文初稿撰写; 王攀登为本文的第四作者, 负责数据处理和文章修改; 程永现为本文的通讯作者, 负责实验的指导和设计, 并对文章进行审阅和定稿。

利益冲突: 所有作者均声明没有利益冲突。

References

[1] Jadoul M, Aoun M, Masimango I, et al. The major global burden of chronic kidney disease [J]. Lancet Glob Health, 2024, 12: 342-343.

[2] Panizo S, Martinez-Arias L, Alonso-Montes C, et al. Fibrosis in

chronic kidney disease: Pathogenesis and consequences [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22: 408.

[3] Klinkhammer B, Boor P. Kidney fibrosis: Emerging diagnostic and therapeutic strategies [J]. Mol Aspects Med, 2023, 93: 101206.

[4] Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典)[S]. 2025 Ed. Part I. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2025: 223.

[5] Li SZ. Compendium of Materia Medica (本草纲目) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1978: 1953.

[6] Tian J, Fan YQ. Insight into the experience of national medicine Master Zhang Daning in treating chronic renal failure [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2019, 34: 4607-4609.

[7] Lee C, Chiang L, Cheng L, et al. Influenza A (H_1N_1) antiviral and cytotoxic agents from *Ferula assa-foetida* [J]. J Nat Prod, 2009, 72: 1568-1572.

[8] Wang B, Ju J, He X, et al. Three new terpenoids from *Pinus yunnanensis* [J]. Helv Chim Acta, 2010, 93: 490-496.

[9] Li H, Song H, Zhang Y, et al. Chemical constituents of the barks of *Podocarpus macrophyllus* [J]. Chem Nat Compd, 2016, 52: 539-541.

[10] Koutsaviti A, Ioannou E, Couladis M, et al. ^{1}H and ^{13}C NMR spectral assignments of abietane diterpenes from *Pinus heldreichii* and *Pinus nigra* subsp. *nigra* [J]. Magn Reson Chem, 2017, 55: 772-778.

[11] Lu Y, Hua Y. Abietane diterpenes from *Callicarpa pedunculata* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2011, 23: 66-68.

[12] Ayer W, Macaulay J. Metabolites of the honey mushroom, *Armillaria mellea* [J]. Can J Chem, 1987, 65: 7-14.