

连翘中一个新的半日花烷型二萜类化合物

陈晓兰, 杨青青, 陈宣钦, 李蓉涛, 张治军*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 采用多种色谱分离技术(硅胶柱色谱、MCI柱色谱、Sephadex LH-20凝胶柱色谱等)对木樨科(Oleaceae)连翘属植物连翘(*Forsythia suspensa*)的果实进行化学成分研究。从其95%乙醇提取部分中分离得到14个萜类化合物,并通过MS、1D-和2D-NMR等波谱手段和量子化学计算方法进行了结构鉴定:半日花烷型二萜(1~6)、克罗烷型二萜(7)、降半日花烷型二萜(8)、降克罗烷型二萜(9)、齐墩果烷型三萜(10)、乌苏烷型三萜(11, 12)、羽扇豆烷型三萜(13, 14)。其中化合物1为新化合物,化合物3~9、11和12为首次从中药连翘中分离得到。评价了这些化合物对脂多糖(LPS)诱导小鼠巨噬细胞RAW 264.7产生一氧化氮(NO)的抑制作用,结果显示这些化合物均未表现出明显的抑制活性。

关键词: 连翘; 半日花烷型二萜; 巨噬细胞RAW 264.7; 一氧化氮抑制生成活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2025)03-0755-07

A new labdane diterpene compound in *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl

CHEN Xiao-lan, YANG Qing-qing, CHEN Xuan-qin, LI Rong-tao, ZHANG Zhi-jun*

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: The chemical constituents of the fruits of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl were investigated by using chromatographic techniques (silica gel, MCI, and sephadex LH-20 gel column chromatography, etc). Fourteen compounds were isolated from the 95% ethanol extract of *F. suspensa*, and their structures were identified by HR-ESI-MS, NMR, and calculated electronic circular dichroism (ECD) methods. The compounds included labdane diterpenes (1–6), clerodane diterpene (7), norlabdane diterpene (8), norclerodane diterpene (9), oleanane triterpenoid (10), ursane triterpenoids (11, 12), lupane triterpenoids (13, 14). Among them, compound 1 was a new compound and compounds 3–9, 11, and 12 were obtained from this plant for the first time. The inhibitory effect of these compounds on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in mouse macrophage RAW 264.7 cells also was evaluated. Unfortunately, none of these compounds exhibited significant inhibitory activity.

Key words: *Forsythia suspensa*; labdane diterpene; macrophage RAW 264.7; NO production inhibitory activity

连翘(*Forsythia suspensa*)是木樨科(Oleaceae)连翘属(*Forsythia*)木本植物的干燥果实。连翘用药历史悠久,始载于《神农本草经》,其性寒,味辛苦,无毒,入肺、心、胆经,具有清热解毒、消肿散结的功效,临床用

于治疗痈疽、痈肿疮毒、瘰疬痰核、乳痈、丹毒、风热感冒、温病初期、温热入营、高热烦渴、昏厥发斑、热淋尿闭、热淋涩痛等^[1]。连翘为大宗常用的中药材,2020年版中国药典中列出含连翘的中药制剂有一百多种,是莲花清瘟胶囊、双黄连口服液、银翘散、复方银花解毒颗粒、清喉咽合剂等多种中药制剂的主要原料^[2]。现代药理学研究表明其具有抗炎^[3]、抗氧化^[4]、抗菌^[5]、抗病毒^[6]和抗过敏^[7]等作用。以上信息均表明中药连翘具有巨大的药用价值。

收稿日期: 2024-10-16; 修回日期: 2024-12-16.

基金项目: 云南省基础研究计划(202101BE070001-045); 云南省重大科技专项(202302AG050004)资助项目.

*通讯作者 Tel: 86-871-65920569, E-mail: zzzj0121@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2024-0998

据2018年最新研究综述统计,从连翘中已发现237个化合物,包括46个木脂素、31个苯乙醇苷、11个黄酮类化合物、80个萜类化合物、20个环己基乙醇衍生物、6个生物碱、4个甾体和39个其他化合物^[8]。最近的化学成分和生物活性研究表明,连翘中的半日花烷型二萜类具有明显的抗炎活性^[9]。为寻找获得更多结构新颖的萜类化合物,本论文对连翘的95%乙醇提取物进行研究,重点关注其中的萜类化学成分。从中共分离得14个萜类化合物(图1),分别鉴定为(3*S*,5*R*,9*S*,10*R*)-3-羟基半日花烷-8(17),13*E*-二烯-15-醛(**1**)、agatholic acid (**2**)、19-hydroxylabda-8(17),13*E*-dien-15-al (**3**)、agathadiol (**4**)、8-hydroxylabd-13*E*-en-15-al (**5**)、uasdlabdane F (**6**)、caryopterisoid F (**7**)、19-hydroxy-15,16-dinorlabd-8(17)-en-13-one (**8**)、caryopterisoid B (**9**)、 β -香树脂醇乙酸酯(**10**)、3 β ,13 β -dihydroxyurs-11-en-28-oic acid (**11**)、3-羟基-11-乌苏烯-28,13-内酯(**12**)、白桦脂酸(**13**)、白桦脂醇(**14**)。其中化合物**1**为新化合物,化合物**3**~**9**、**11**和**12**为首次从中药连翘中分离得到。评价了这些化合物对脂多糖诱导小鼠巨噬细胞RAW 264.7产生一氧化氮(NO)的抑制作用,结果显示这些化合物均未表现出明显的抑制活性。

结果与讨论

1 化合物**1**的结构鉴定

化合物**1**是白色无定形粉末,通过HR-ESI-MS的准

分子离子峰 m/z 327.230 1 $[M+Na]^+$ (计算值 327.229 5) 确定其分子式为 $C_{20}H_{32}O_2$, 不饱和度为 5。化合物**1**的 1H NMR 谱(表1)显示化合物有4个甲基信号 [δ_H 2.16 (3H, s, Me-16)、0.98 (3H, s, Me-18)、0.76 (3H, s, Me-19) 和 0.68 (3H, s, Me-20)], 1个连氧次甲基氢信号 [δ_H 3.25 (1H, dd, $J = 11.8, 3.5$ Hz, H₁-3)], 末端双键的2个氢信号 [δ_H 4.87 和 4.49 (各 1H, s, H₂-17)], 双键的1个氢信号 [δ_H 5.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H₁-14)] 和醛基的1个氢信号 [δ_H 9.98 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H₁-15)]。化合物**1**的 ^{13}C NMR 谱和异核单量子相关(HSQC)谱(表1)表明化合物有20个碳信号,包括4个甲基碳信号 [δ_C 17.8 (C-16)、28.4 (C-18)、15.5 (C-19) 和 14.0 (C-20)], 6个脂肪族亚甲基碳信号 [δ_C 37.2 (C-1)、28.0 (C-2)、24.1 (C-6)、38.2 (C-7)、21.5 (C-11) 和 39.5 (C-12)]; 2个次甲基碳信号 [δ_C 54.6 (C-5) 和 56.0 (C-9)], 1个含氧叔碳 [δ_C 78.8 (C-3)], 以及2对双键的碳信号 [δ_C 165.0 (C-13) 和 127.3 (C-14); 147.6 (C-8) 和 107.0 (C-17)] 和1个羰基碳信号 [δ_C 191.6 (C-15)]。

1H - 1H COSY 谱(图2)中能观察到H-1/H-2/H-3、H-5/H-6/H-7和H-9/H-11/H-12的相关片段。且C-1、C-2、C-6、C-7、C-11、C-12为亚甲基信号,C-3为连氧次甲基信号,C-5、C-9为次甲基信号。HMBC谱中H-3与C-4/C-5相关,C-18位甲基氢信号与C-4/C-19相关,C-19位甲基氢信号与C-4/C-5相关,H-5与C-9/C-10相关,H-6与C-8相关,H-17与C-7/C-8相关,H-11与C-8/C-9/C-10相关,C-20位甲基氢信号与C-1/C-10相关,

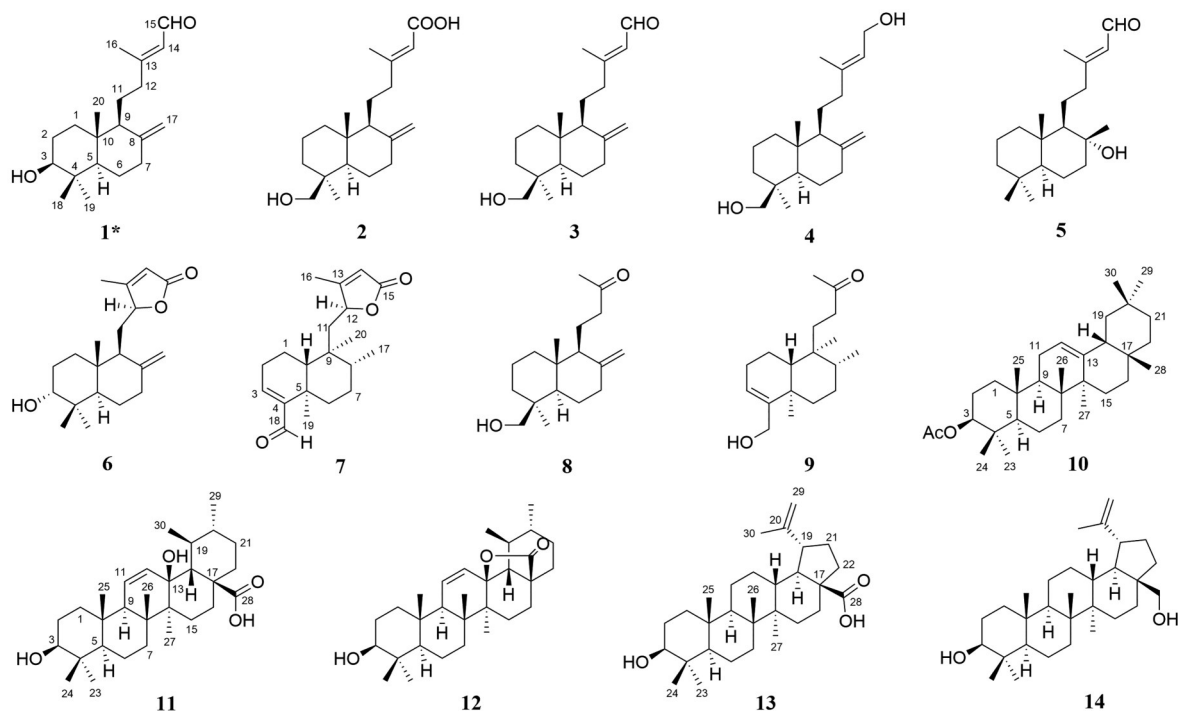
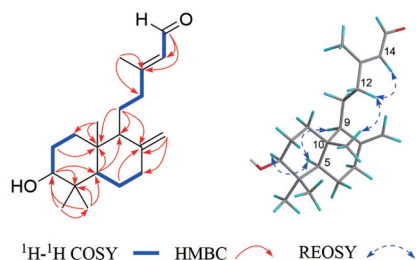


Figure 1 Chemical structures of compounds 1-14

Table 1 ^1H (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compound **1** in CDCl_3

No.	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	No.	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)
1	37.2	1.66 m; 1.15 dd (12.3, 3.8)	11	21.5	1.38 m
2	28.0	1.75 d (3.8); 1.59 dd (12.3, 3.5)	12	39.5	1.95 m
3	78.8	3.25 dd (11.8, 3.5)	13	165.0	—
4	39.2	—	14	127.3	5.86 d (8.1)
5	54.6	1.07 dd (12.5, 2.8)	15	191.6	9.98 d (8.1)
6	24.1	2.03 dd (12.5, 8.7); 1.73 d (2.8)	16	17.8	2.16 s
7	38.2	2.38 m	17	107.0	4.87 s; 4.49 s
8	147.6	—	18	28.4	0.98 s
9	56.0	1.55 m	19	15.5	0.76 s
10	39.5	—	20	14.0	0.68 s

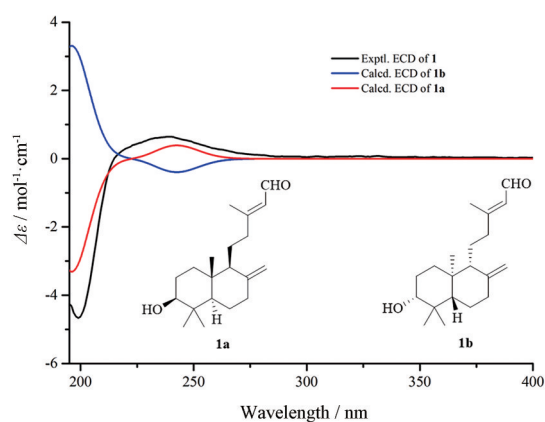
C-16位甲基氢信号与C-12/C-13相关, C-15位醛基氢信号与C-13/C-14相关(图2)。化合物**1**的上述NMR数据与半日花烷型二萜 3β -hydroxyanticopalic acid^[10]的数据非常相似, 两个化合物的区别在于已知化合物 3β -hydroxyanticopalic acid的C-15羧基在化合物**1**被还原为一个醛基。

**Figure 2** Key 2D-NMR correlations of compound **1**

目前报道的连翘半日花烷型二萜的手性碳的构型均相同, 即H-5和H-9为 α 构型, C-20甲基为 β 构型^[8,9]。在化合物**1**的ROESY谱(图2)中, H-5与H-3/H-9相关, H-12与H-20/H-14相关, 说明H-3、H-5和H-9为 α 构型, C-20甲基为 β 构型, C-13/C-14的双键为 E 型。最终通过计算ECD的方式(图3), 比较 3β -hydroxyabda-8(17),13 E -dien-15-al (**1a**)和 3α -hydroxyabda-8(17),13 E -dien-15-al (**1b**)与实验ECD的匹配程度, **1a**与化合物**1**更匹配, 因此, 最终将化合物**1**鉴定为(3 S ,5 R ,9 S ,10 R)-3-羟基半日花烷-8(17),13 E -二烯-15-醛 [(3 S ,5 R ,9 S ,10 R)-3-hydroxyabda-8(17),13 E -dien-15-al]。

2 分离得到的化合物对脂多糖(LPS)诱导小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 产生 NO 的抑制作用测试

采用LPS诱导小鼠巨噬细胞RAW 264.7炎症模型, 评价了分离得到的14个萜类化合物的抑制NO生成活性, 以L-单甲基精氨酸(N^G -monomethyl-L-arginine, L-NMMA)为阳性对照药。实验结果显示, 化合物**1**~**14**在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度下均没有明显的抑制作用(L-NMMA, $\text{IC}_{50} = 15.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度以下对小鼠巨噬细胞RAW 264.7均无细胞毒性。

**Figure 3** The ECD calculations of compound **1**

3 讨论

开展了中药连翘的化学成分研究, 重点关注其中的萜类成分, 从中共分离得到了14个萜类化合物。其中化合物**1**为新化合物, 鉴定为(3 S ,5 R ,9 S ,10 R)-3-羟基半日花烷-8(17),13 E -二烯-15-醛, 化合物**3**~**9**、**11**和**12**为首次从中药连翘中分离得到。另外, 评价了这些化合物对脂多糖诱导小鼠巨噬细胞RAW 264.7产生一氧化氮的抑制作用。结果显示这些化合物在 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度下均未表现出明显的抑制活性。

材料与amp;方法

Agilent LC-MS-Q-TOF 6530 超高效液相色谱-高分辨质谱联用仪, Agilent 1200 半制备型高效液相色谱仪, Zorbax SB-C18 ($5 \mu\text{m}$, $9.4 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$) 色谱柱(美国Agilent公司); Bruker AVANCE-III 600 MHz 核磁共振波谱仪, Bruker Tensor-27 红外光谱仪(德国Bruker公司); Autopo VI 高精度旋光仪(美国Rudolph Research Analytical公司); UV-8000 紫外分光光度计(上海元析仪器有限公司); CHP-20P MCI 硅胶(日本三菱化学公司); Sephadex LH-20 凝胶(南京元宝峰医药科技有限公司); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板(青岛海洋有限公司); 80~100和200~300目柱色谱正向硅胶(青

岛基亿达硅胶试剂有限公司); 柱色谱用石油醚、乙酸乙酯、甲醇分析纯等溶剂 (永华化学股份有限公司); Thermo Forma 3111 细胞恒温培养箱; Multiskan Sky High 1550 全波长酶标仪 (美国 Thermo Forma 公司); Spectra Max M2 多功能读板机 (美国 Molecular Devices 公司); L-NMMA (上海碧云天生物技术有限公司)。

连翘 (*F. suspensa*) 果实 (青翘) 于 2022 年 7 月在云南省昆明市菊花药材市场店购得, 经本论文作者之一陈宣钦教授鉴定为木樨科连翘属连翘的果实, 样品编号: KMUST20220706, 样品存放于云南省高校呼吸道病毒性疾病新药重点实验室。

1 提取分离

连翘果实 10.0 kg, 干燥后粉碎, 95% 乙醇 (100 L × 3) 浸泡提取, 每次浸泡 48 h, 合并浓缩至无乙醇味, 用等体积的乙酸乙酯萃取三次, 得到乙酸乙酯部位 1.2 kg。乙酸乙酯部位硅胶 (80~100 目) 拌样, 硅胶柱色谱 (200~300 目), 使用二氯甲烷-甲醇 (100:1~1:1) 洗脱得到组分 Fr.1~Fr.3。Fr.1 (10.1 g) 硅胶柱色谱, 使用石油醚-乙酸乙酯 (30:1~5:1) 洗脱得到组分 Fr.1.3 (1.2 g), 结晶得到化合物 **10** (358.2 mg)。Fr.2 (405.1 g) 硅胶柱色谱, 使用石油醚-乙酸乙酯 (10:1~1:1) 洗脱得到四个组分 Fr.2.1~2.4。Fr.2.2 (87.3 g) 经过 MCI 柱 (1.0 kg, 15 cm × 30 cm) 色谱, 依次用 30%、50%、70%、80%、90% 甲醇-水分离得到组分 Fr.2.2.1~2.2.10。Fr.2.2.4 (896.0 mg) 硅胶柱色谱, 使用二氯甲烷-异丙醇 (40:1~10:1), 洗脱得到化合物 **5** (6.2 mg)。Fr.2.2.6 (3.3 g) 过硅胶柱使用石油醚-丙酮 (5:1~1:1) 洗脱得到五个组分 Fr.2.2.6.1~2.2.6.5。Fr.2.2.6.2 (680.0 mg) 用制备液相色谱 (78% 甲醇水, 10 mL·min⁻¹, λ = 210 nm, t_R = 39, 28, 33 min) 分离得到化合物 **7** (2.1 mg)、**8** (8.7 mg) 和 **9** (7.3 mg)。Fr.2.2.7 (1.1 g) 凝胶柱色谱, 甲醇洗脱得到 Fr.2.2.7.1~2.2.7.2。Fr.2.2.7.1 (829.0 mg) 硅胶柱色谱, 使用石油醚-丙酮 (15:1~2:1), 洗脱得到化合物 **1** (3.2 mg) 和 **3** (37.6 mg)。Fr.2.2.8 (1.0 g) 过硅胶柱使用石油醚-丙酮 (15:1~2:1) 得到 Fr.2.2.8.4 (410.0 mg), 继续用半制备液相色谱 (88% 甲醇水, 3 mL·min⁻¹, λ = 210 nm, t_R = 22, 29 min) 分离得到化合物 **11** (8.3 mg) 和 **14** (3.2 mg)。Fr.2.2.10 (63.0 g) 硅胶柱色谱, 使用石油醚-二氯甲烷 (5:1~1:1) 洗脱得到 Fr.2.2.10.3, 结晶得到化合物 **13** (13.0 mg)。Fr.2.3 (65.0 g) MCI 柱 (1.0 kg, 15 cm × 30 cm) 色谱, 依次用 30%、50%、70%、80%、90% 甲醇-水分离得到四个组分 Fr.2.3.1~2.3.4。Fr.2.3.2 (27.0 g) 结晶得到化合物 **2** (31.5 mg)。Fr.2.3.2 硅胶柱色谱使用二氯甲烷-丙酮 (20:1~5:1) 洗脱得到 Fr.2.3.2.2 (526.3 mg), 凝胶柱色谱, 甲醇洗脱得到化

合物 **6** (5.3 mg)。Fr.2.3.2.3 (45.2 mg) 薄层色谱制备分离得到化合物 **4** (6.4 mg)。Fr.2.3.3 (1.2 g) 硅胶柱色谱, 使用石油醚-乙酸乙酯 (20:1~2:1) 洗脱得到 Fr.2.3.3.1~Fr.2.3.3.3。Fr.2.3.3.2 (786.0 mg) 凝胶柱色谱, 甲醇洗脱得到组分 Fr.2.3.3.2.1~Fr.2.3.3.2.4。Fr.2.3.3.2.2 (182.0 mg) 硅胶柱色谱使用二氯甲烷-异丙醇 (80:1~10:1) 洗脱, 得到组分 Fr.2.3.3.2.2.3 (74.0 mg), 液相色谱制备 (73% 甲醇水, 3 mL·min⁻¹, λ = 203 nm, t_R = 34 min) 分离得到化合物 **12** (5.7 mg)。

2 波谱数据

(3*S*,5*R*,9*S*,10*R*)-3-羟基半日花烷-8(17),13*E*-二烯-15-醛 [(3*S*,5*R*,9*S*,10*R*)-3-hydroxyabda-8(17),13*E*-dien-15-al, **1**], 白色无定形粉末。UV (MeOH) λ_{max} (log ε): 195 (4.25), 239 (4.18) nm; [α]_D²⁰ +22.0 (c 0.21, MeOH); IR (KBr) ν_{max}: 3 365, 2 966, 2 750, 1 701, 1 666, 1 449, 1 299, 1 031 cm⁻¹; ECD (MeOH) λ_{max} (Δε) 199 (-13.12) nm; 238 (+1.81) nm; ¹H (CDCl₃, 600 MHz) 和 ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) 见表 1; HR-ESI-MS *m/z* 327.230 1 [M+Na]⁺ (calc. for C₂₀H₃₃O₂, 327.229 5)。

Agatholic acid (**2**), 白色无定形粉末, 分子式为 C₂₀H₃₂O₃。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_H 5.67 (1H, s, H-14), 4.84 (1H, s, H-17a), 4.49 (1H, s, H-17b), 3.75 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-18a), 3.39 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-18b), 2.39 (1H, m, H-7a), 2.31 (1H, m, H-12a), 2.16 (3H, s, H-16), 1.99 (1H, m, H-12b), 1.92 (1H, m, H-7b), 1.80 (3H, m, H-1b, 3b, 6a), 1.68 (1H, m, H-9), 1.58 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-2a), 1.50 (3H, m, H-2b, 11a, 11b), 1.30 (1H, m, H-6b), 1.25 (1H, dd, *J* = 12.8, 2.4 Hz, H-5), 1.04 (1H, td, *J* = 12.8, 5.0 Hz, H-1a), 0.98 (4H, m, H-3a, 19), 0.65 (3H, s, H-20); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_C 15.6 (C-20), 19.3 (C-19), 65.4 (C-18), 107.1 (C-17), 19.6 (C-16), 171.7 (C-15), 115.0 (C-14), 164.3 (C-13), 39.9 (C-12), 24.7 (C-11), 40.3 (C-10), 56.5 (C-9), 148.0 (C-8), 38.9 (C-7), 27.4 (C-6) 56.4 (C-5), 35.6 (C-4), 39.3 (C-3), 21.8 (C-2), 39.2 (C-1)。以上数据与文献^[11]报道一致。

19-Hydroxyabda-8(17),13*E*-dien-15-al (**3**), 白色无定形粉末, 分子式为 C₂₀H₃₂O₂。¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_H 9.94 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-15), 5.81 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-14), 4.87 (1H, s, H-17a), 4.53 (1H, s, H-17b), 3.71 (2H, m, H-18), 2.40 (1H, m, H-7a), 2.20 (3H, s, H-16), 2.09 (1H, m, H-6a), 2.00 (2H, m, H-7b, 12a), 1.84 (2H, m, H-6b, 9), 1.58 (3H, m, H-1a, 2a, 3a), 1.49 (1H, m, H-2b), 1.31 (4H, m, H-1b, 3b, 11a, 11b), 0.95 (3H, s, H-20), 0.70 (4H, m, H-5, 19); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ_C 14.4 (C-20), 63.3 (C-19), 26.5 (C-18), 105.8

(C-17), 16.3 (C-16), 192.2 (C-15), 126.6 (C-14), 166.6 (C-13), 38.8 (C-12), 21.2 (C-11), 38.6 (C-10), 56.2 (C-9), 147.8 (C-8), 39.1 (C-7), 24.1 (C-6), 56.1 (C-5), 39.3 (C-4), 35.0 (C-3), 18.6 (C-2), 38.3 (C-1)。以上数据与文献^[12]报道一致。

Agathadiol (**4**), 白色无定形粉末, 分子式为 $C_{20}H_{34}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 6.04 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-14), 4.79 (1H, s, H-17a), 4.41 (1H, s, H-17b), 3.54 (2H, m, H-15), 2.26 (3H, s, H-16), 1.27 (3H, s, H-19), 0.80 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C 15.5 (C-20), 19.1 (C-19), 65.1 (C-18), 106.7 (C-17), 16.5 (C-16), 59.6 (C-15), 123.1 (C-14), 140.7 (C-13), 38.5 (C-12), 24.5 (C-11), 39.7 (C-10), 56.4 (C-9), 148.2 (C-8), 39.0 (C-7), 27.2 (C-6), 56.4 (C-5), 38.7 (C-4), 35.5 (C-3), 22.0 (C-2), 39.1 (C-1)。以上数据与文献^[12]报道一致。

8-Hydroxylabd-13E-en-15-al (**5**), 白色无定形粉末, 分子式为 $C_{20}H_{34}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 9.39 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-15), 5.30 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-14), 3.18 (1H, dd, $J = 12.0, 3.8$ Hz, H-3), 2.18 (3H, s, H-16), 1.25 (3H, s, H-17), 1.05 (6H, s, H-18, 20), 0.84 (3H, s, H-19); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C 14.3 (C-20), 23.2 (C-19), 28.0 (C-18), 29.9 (C-17), 15.6 (C-16), 195.1 (C-15), 137.9 (C-14), 161.6 (C-13), 32.1 (C-12), 27.5 (C-11), 31.6 (C-10), 53.6 (C-9), 78.8 (C-8), 38.9 (C-7), 20.5 (C-6), 49.9 (C-5), 30.2 (C-4), 36.6 (C-3), 17.6 (C-2), 36.3 (C-1)。以上数据与文献^[12]报道一致。

Uasdlabdane F (**6**), 白色无定形粉末, 分子式为 $C_{20}H_{30}O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.77 (1H, m, H-14a), 4.92 (1H, s, H-17a), 4.86 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-12a), 4.43 (1H, s, H-17b), 3.40 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-3a), 2.41 (1H, m, H-7a), 2.27 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-7a), 2.10 (3H, s, H-16), 1.92 (1H, ddd, $J = 13.9, 11.8, 1.7$ Hz, H-9a), 1.68 (1H, m, H-11a), 1.43 (3H, m, H-2a, 6a, 11b), 1.35 (2H, m, H-1, 5), 1.28 (3H, m, H-1a, 6b), 1.02 (3H, s, H-19), 0.75 (3H, s, H-18), 0.72 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C 14.1 (C-20), 17.6 (C-19), 28.0 (C-18), 106.4 (C-17), 15.1 (C-16), 173.4 (C-15), 116.6 (C-14), 169.6 (C-13), 83.7 (C-12), 35.3 (C-11), 39.3 (C-10), 52.4 (C-9), 148.4 (C-8), 38.3 (C-7), 18.6 (C-6), 48.5 (C-5), 38.1 (C-4), 72.3 (C-3), 24.2 (C-2), 37.9 (C-1)。以上数据与文献^[13]报道一致。

Caryopterisoid F (**7**), 白色无定形粉末, 分子式为 $C_{20}H_{28}O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 9.41 (1H, s, H-18), 6.73 (1H, t, $J = 3.8$ Hz, H-3), 5.81 (1H, m, H-14),

4.90 (1H, d, $J = 10.3$ Hz, H-12), 2.59 (2H, m, H-2a, 6a), 2.47 (1H, dt, $J = 11.3, 5.6$ Hz, H-2b), 2.07 (3H, s, H-16), 1.85 (2H, m, H-1a, 11a), 1.55 (2H, m, H-8a, 10a), 1.47 (2H, m, H-7a, 11b), 1.36 (1H, d, $J = 4.6$ Hz, H-1b), 1.26 (3H, s, H-19), 1.03 (1H, dt, $J = 11.8, 2.4$ Hz, H-6b), 0.80 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-17), 0.77 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C 17.2 (C-20), 25.6 (C-19), 194.0 (C-18), 16.6 (C-17), 14.3 (C-16), 173.4 (C-15), 116.9 (C-14), 169.5 (C-13), 82.0 (C-12), 40.8 (C-11), 46.0 (C-10), 40.7 (C-9), 36.9 (C-8), 28.7 (C-7), 35.2 (C-6), 38.9 (C-5), 147.2 (C-4), 155.2 (C-3), 33.1 (C-2), 17.4 (C-1)。以上数据与文献^[14]报道一致。

19-Hydroxy-15, 16-dinorlabd-8(17)-en-13-one (**8**), 无色油状物, 分子式为 $C_{18}H_{30}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 4.76 (1H, s, H-17a), 4.40 (1H, s, H-17b), 3.66 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-18a), 3.20 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-18b), 2.53 (1H, ddd, $J = 17.7, 9.1, 4.6$ Hz, H-12a), 2.32 (2H, m, H-7), 2.03 (3H, s, H-16), 1.87 (1H, td, $J = 12.8, 4.9$ Hz, H-6a), 1.79 (1H, m, H-9), 1.75 (1H, m, H-6b), 1.72 (2H, m, H-1a, 3a), 1.54 (2H, m, H-2a, 11a), 1.45 (2H, m, H-1b, 2a), 1.27 (1H, tt, $J = 12.6, 6.4$ Hz, H-3b), 0.89 (4H, s, H-5a, 19), 0.62 (3H, s, H-17); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 15.8 (C-20), 18.8 (C-19), 64.9 (C-18), 107.2 (C-17), 30.1 (C-14), 212.4 (C-13), 43.6 (C-12), 20.2 (C-11), 40.8 (C-10), 57.7 (C-9), 149.4 (C-8), 40.1 (C-7), 28.0 (C-6), 57.7 (C-5), 39.8 (C-4), 36.6 (C-3), 25.7 (C-2), 40.2 (C-1)。以上数据与文献^[15]报道一致。

Caryopterisoid B (**9**), 无色油状物, 分子式为 $C_{18}H_{30}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H 5.55 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-3), 4.03 (2H, d, $J = 5.0$ Hz, H-18), 2.32 (2H, m, H-12a, 12b), 2.09 (3H, s, H-16), 2.04 (1H, m, H-2a), 1.98 (1H, m, H-2b), 1.77 (1H, dd, $J = 14.9, 9.0$ Hz, H-6a), 1.69 (1H, m, H-6b), 1.07 (3H, s, H-19), 0.78 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-17), 0.71 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C 16.3 (C-20), 24.7 (C-19), 64.4 (C-18), 17.7 (C-17), 32.5 (C-16), 212.7 (C-13), 38.1 (C-12), 35.2 (C-11), 46.7 (C-10), 40.9 (C-9), 37.8 (C-8), 30.1 (C-7), 37.3 (C-6), 38.7 (C-5), 143.9 (C-4), 125.3 (C-3), 30.0 (C-2), 18.4 (C-1)。以上数据与文献^[13]报道一致。

β -香树脂醇乙酸酯 (**10**), 无色针状晶体, 分子式为 $C_{32}H_{52}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H 5.18 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 4.50 (1H, m, H-3), 2.05 (3H, s, H-MeCO), 1.12 (3H, s, H-27), 0.96 (6H, d, $J = 2.8$ Hz, H-25, 26), 0.86 (12H, m, H-29, 30, 23, 24), 0.82 (3H, s, H-28); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C 171.2 (C-32), 21.5

(C-31), 23.8 (C-30), 33.5 (C-29), 28.5 (C-28), 26.1 (C-27), 16.8 (C-26), 15.7 (C-25), 16.9 (C-24), 28.2 (C-23), 37.2 (C-22), 34.8 (C-21), 31.2 (C-20), 46.9 (C-19), 47.3 (C-18), 32.6 (C-17), 26.2 (C-16), 27.0 (C-15), 41.8 (C-14), 145.3 (C-13), 121.7 (C-12), 23.7 (C-11), 36.9 (C-10), 47.7 (C-9), 39.9 (C-8), 32.7 (C-7), 18.4 (C-6), 55.3 (C-5), 37.8 (C-4), 81.1 (C-3), 23.7 (C-2), 38.4 (C-1)。以上数据与文献^[16]报道一致。

3 β ,13 β -Dihydroxyurs-11-en-28-oic acid (**11**), 无色晶体, 分子式为C₃₀H₄₈O₄。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} 5.95 (1H, m, H-12), 5.52 (1H, dd, $J = 10.3, 3.2$ Hz, H-11), 3.21 (1H, dd, $J = 11.7, 4.8$ Hz, H-3), 1.25 (3H, d, $J = 12.0$ Hz, H-27), 1.15 (3H, s, H-26), 1.04 (3H, s, H-25), 0.99 (3H, m, H-24), 0.93 (3H, s, H-29), 0.90 (3H, s, H-23), 0.77 (3H, s, H-30); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_{C} 20.1 (C-30), 18.8 (C-29), 181.0 (C-28), 18.9 (C-27), 19.8 (C-26), 17.1 (C-25), 15.9 (C-24), 28.7 (C-23), 32.2 (C-22), 32.1 (C-21), 41.2 (C-20), 39.0 (C-19), 61.5 (C-18), 46.0 (C-17), 26.5 (C-16), 27.9 (C-15), 42.8 (C-14), 90.7 (C-13), 129.7 (C-12), 134.4 (C-11), 37.3 (C-10), 54.4 (C-9), 42.6 (C-8), 31.7 (C-7), 18.6 (C-6), 55.6 (C-5), 39.9 (C-4), 79.8 (C-3), 23.7 (C-2), 39.2 (C-1)。以上数据与文献^[17]报道一致。

3-羟基-11-乌苏烯-28,13-内酯 (**12**), 白色无定形粉末, 分子式为C₃₀H₄₆O₃。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} 5.95 (1H, d, $J = 10.3$ Hz, H-11), 5.53 (1H, dd, $J = 10.4, 3.1$ Hz, H-12), 3.21 (1H, dd, $J = 11.7, 4.7$ Hz, H-3), 1.05 (3H, d, $J = 5.6$ Hz, H-27), 0.99 (6H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26, 29), 0.93 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-30), 0.90 (3H, s, H-25), 0.78 (3H, s, H-23), 0.73 (3H, m, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_{C} 18.0 (C-30), 18.1 (C-29), 180.1 (C-28), 15.1 (C-27), 19.0 (C-26), 19.3 (C-25), 16.2 (C-24), 27.9 (C-23), 31.4 (C-22), 30.9 (C-21), 40.4 (C-20), 39.0 (C-19), 60.6 (C-18), 45.2 (C-17), 22.9 (C-16), 27.1 (C-15), 42.0 (C-14), 89.9 (C-13), 128.9 (C-12), 133.6 (C-11), 36.4 (C-10), 53.1 (C-9), 41.8 (C-8), 31.3 (C-7), 17.8 (C-6), 54.8 (C-5), 38.2 (C-4), 79.0 (C-3), 25.6 (C-2) 38.4 (C-1)。以上数据与文献^[18]报道一致。

白桦脂酸 (**13**), 白色无定形粉末, 分子式为C₃₀H₄₈O₃。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} 12.08 (1H, s, H-28), 4.68 (1H, s, H-29), 4.58 (1H, s, H-29), 3.20 (1H, dd, $J = 5.1, 10.8$ Hz, H-3), 1.69 (3H, m, H-30), 0.97 (3H, s, H-27), 0.96 (6H, s, H-24, 26), 0.93 (3H, s, H-29), 0.81 (3H, s, H-23), 0.76 (3H, s, H-25); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_{C} 19.3 (C-30), 109.5 (C-29), 179.2 (C-28), 14.6

(C-27), 16.1 (C-26), 15.4 (C-25), 20.9 (C-24), 20.9 (C-23), 34.3 (C-22), 29.7 (C-21), 150.8 (C-20), 42.4 (C-19), 47.0 (C-18), 56.2 (C-17), 30.6 (C-16), 27.9 (C-15), 40.6 (C-14), 38.3 (C-13), 25.5 (C-12), 18.3 (C-11), 37.1 (C-10), 50.5 (C-9), 38.8 (C-8), 32.3 (C-7), 15.8 (C-6), 55.4 (C-5), 38.8 (C-4), 78.8 (C-3), 26.9 (C-2), 37.2 (C-1)。以上数据与文献^[19]报道一致。

白桦脂醇 (**14**), 白色无定形粉末, 分子式为C₃₀H₅₀O₂。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ_{H} 4.68 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-29), 4.58 (1H, s, H-29), 3.80 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-28), 3.33 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-28), 3.19 (1H, dd, $J = 11.6, 4.7$ Hz, H-3), 2.39 (1H, td, $J = 11.2, 5.9$ Hz, H-19), 1.94 (3H, s, H-30), 1.03 (6H, s, H-26, 27), 0.97 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-25), 0.76 (3H, s, H-24); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_{C} 19.7 (C-30), 108.6 (C-29), 59.4 (C-28), 13.6 (C-27), 15.0 (C-26), 14.8 (C-25), 14.3 (C-24), 25.9 (C-23), 32.8 (C-22), 28.6 (C-21), 149.4 (C-20), 47.6 (C-19), 46.6 (C-18), 46.6 (C-17), 28.6 (C-16), 26.9 (C-15), 41.6 (C-14), 36.0 (C-13), 26.2 (C-12), 24.0 (C-11), 36.1 (C-10), 49.2 (C-9), 39.8 (C-8), 33.1 (C-7), 17.2 (C-6), 54.1 (C-5), 37.5 (C-4), 77.9 (C-3), 28.0 (C-2), 37.7 (C-1)。以上数据与文献^[20]报道一致。

3 计算ECD

ECD计算的方法与本课题组发表的文章^[21]描述一致。

4 生物活性实验

体外抗炎活性筛选采用小鼠单核巨噬细胞RAW 264.7模型^[22], 具体如下: RAW 264.7细胞用含10% FBS DMEM培养液于37 °C、5% CO₂培养箱中常规培养。细胞按每毫升1×10⁵个、每孔接种200 μ L于96孔板中, 置于37 °C、5% CO₂细胞培养箱中贴壁24 h后。各组加入终浓度为1 μ g·mL⁻¹ LPS, 继续培养24 h, 离心, 取上清液按照Griess法测定上清液中NO的含量。

作者贡献: 陈晓兰负责连翘化学成分的提取分离、化合物结构鉴定; 杨青青负责生物实验和结构ECD计算; 陈宣钦对连翘进行鉴定; 李蓉涛和张治军负责实验的设计和论文框架的构建; 张治军负责稿件的撰写修改。

利益冲突: 本研究不存在研究者、伦理委员会成员、受试者监护人以及公开研究成果有关的利益冲突。

References

- [1] Cho HE, Ahn SY, Son IS, et al. HPLC-tandem mass spectrometric analysis of the marker compounds in Forsythiae Fructus and multivariate analysis [J]. Nat Prod Sci, 2011, 17: 147-159.
- [2] Jia JP, Zhang FS, Li ZY, et al. Comparison of fruits of *Forsythia*

- suspensa* at two different maturation stages by NMR-based metabolomics [J]. *Molecules*, 2015, 20: 10065-10081.
- [3] Kim MS, Na HJ, Han SW, et al. Forsythia Fructus inhibits the mast-cell-mediated allergic inflammatory reactions [J]. *Inflammation*, 2003, 27: 129-135.
- [4] Chen CC, Chen HY, Shiao MS, et al. Inhibition of low density lipoprotein oxidation by tetrahydrofuran lignans from *Forsythia suspensa* and *Magnolia coco* [J]. *Planta Med*, 1999, 65: 709-711.
- [5] Han X, Piao XS, Zhang HY, et al. *Forsythia suspensa* extract has the potential to substitute antibiotic in broiler chicken [J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2012, 25: 569-576.
- [6] Ko HC, Wei BL, Chiou WF. Dual regulatory effect of plant extracts of *Forsythia suspensa* on RANTES and MCP-1 secretion in influenza A virus-infected human bronchial epithelial cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, 102: 418-423.
- [7] Hao Y, Li D, Piao X, et al. *Forsythia suspensa* extract alleviates hypersensitivity induced by soybean β -conglycinin in weaned piglets [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128: 412-418.
- [8] Wang Z, Xia Q, Liu X, et al. Phytochemistry, pharmacology, quality control and future research of *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl: a review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 210: 318-319.
- [9] Zhao L, Xiang KL, Liu RX, et al. Anti-inflammatory and antiviral labdane diterpenoids from the fruits of *Forsythia suspensa* [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 96: 103651.
- [10] Gómez CV, Mariano MV, Esquivel B. Antifeedant activity of anticopalic acid isolated from *Vitex hemsleyi* [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2009, 64: 502-508.
- [11] Kuo PC, Hung HY, Nian CW, et al. Chemical constituents and anti-inflammatory principles from the fruits of *Forsythia suspensa* [J]. *J Nat Prod*, 2017, 4: 1055-1064.
- [12] Feliciano AS, Medarde M, Lopez JL, et al. Terpenoids from leaves of *Juniperus thurifera* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27: 2241-2248.
- [13] Castillo QA, Triana J, Eiroa JL, et al. *ent*-Labdane diterpenoids from the aerial parts of *Eupatorium obtusissimum* [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79: 907-913.
- [14] Zhang X, Peng T, Shi X, et al. Diterpenoids caryopterisoids D-Q and iridoid glucoside derivatives caryopterisides F-H from *Caryopteris glutinosa* [J]. *Phytochemistry*, 2020, 180: 112534.
- [15] Conner AH, Rowe JW. New neutral diterpenes from southern pine tall oil [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16: 1777-1781.
- [16] Choi SZ, Choi SU, Lee KR. Pytochemical constituents of the aerial parts from *Solidago virga-aurea* var. *gigantea* [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27: 164-168.
- [17] Hao H, Sun HD, Zhao SX. Triterpenoids of *Isodon loxothyrus* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42: 1665-1666.
- [18] Begum S, Farhat F, Sultana I, et al. Spasmolytic constituents from *Eucalyptus camaldulensis* var. *obtusa* leaves [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63: 1265-1268.
- [19] Pohjala L, Alakurtti S, Ahola T, et al. Betulin-derived compounds as inhibitors of alphavirus replication [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72: 1917-1926.
- [20] Siddiqui S, Hafeez F, Begum S, et al. Oleanderol, a new pentacyclic triterpene from the leaves of *Nerium oleander* [J]. *J Nat Prod*, 1988, 51: 229-233.
- [21] Feng YM, Tang JX, Liu XY, et al. A new cadinane-type sesquiterpenoid and a new natural product from the aerial parts of *Pogostemon cablin* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2024, 59: 2295-2299.
- [22] Cao L, Li R, Chen X, et al. Neougonin a inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses via downregulation of the NF- κ B signaling pathway in RAW 264.7 macrophages [J]. *Inflammation*, 2016, 39: 1939-1948.