

长管红山茶叶片的化学成分研究

王介华¹, 张文华², 肖强¹, 吴增宝¹, 崔令军^{1*}¹湖北民族大学风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室, 恩施 445000; ²石河子大学药学院, 石河子 832000

摘要:为研究长管红山茶(*Camellia longituba* Chang)叶片的化学成分,采用正相硅胶、反相硅胶、凝胶色谱、半制备高效液相色谱仪(HPLC)和高速逆流色谱仪(HSCCC)等一系列方法进行分离纯化,得到15个化合物,根据理化性质结合波谱数据分别鉴定为对羟基肉桂酸(1)、槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷(2)、槲皮素(3)、(+)-儿茶素(4)、原儿茶酸(5)、5,7-二羟基色原酮(6)、芦丁(7)、槲皮素-3-甲醚(8)、9-羟基-4-甲氧基补骨脂素(9)、去甲丁香色原酮(10)、柚皮素(11)、山柰酚(12)、(-)-表儿茶素(13)、没食子酸(14)、杨梅素(15)。所有化合物均为首次从该植物中分离得到,且化合物1、6、7、8、9、10和11是首次从山茶属中分离得到。用红细胞裂解模型对化合物1~15进行尿素通道蛋白B(urea transporter B, UT-B)抑制活性筛选,结果显示化合物14和15具有较强的抑制活性,其IC₅₀值分别为2.373、2.521 μg/mL。

关键词:长管红山茶;化学成分;黄酮;色原酮

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)2-0236-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.2.007

Chemical constituents from leaves of *Camellia longituba* ChangWANG Jie-hua¹, ZHANG Wen-hua², XIAO Qiang¹, WU Zeng-bao, CUI Ling-jun^{1*}¹Hubei Province Key Laboratory of Occurrence and Intervention of Rheumatic Diseases, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China;²School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832003, China

Abstract: To study the chemical constituents from the leaves of *Camellia longituba* Chang. The chemical constituents from the leaves of *C. longituba* were isolated and purified by normal phase silica gel, reverse phase silica gel, sephedx LH-20 gel, semi-preparative HPLC and HSCCC. The compounds were identified by color, morphology, UV and NMR. Their structures were elucidated on the basis of physico-chemical properties and spectral data. 15 compounds were isolated and identified as *p*-hydroxycinnamic acid (1), quercetin-3-O-β-D-galactoside (2), quercetin (3), catechin (4), protocatechuic acid (5), 5,7-dihydroxychromone (6), rutin (7), 3-O-methyl quercetin (8), xanthotoxin (9), noreugenin (10), naringin (11), kaempferol (12), epicatechin (13), gallic acid (14) and myricetin (15). All compounds were isolated from *C. longituba* for the first time, and compounds 1, 6, 7, 8, 9, 10 and 11 were isolated from *Camellia* for the first time. Compounds 1-15 were screened for urea transporter B (UT-B) inhibitors using red blood cell lysing model. The results showed that compounds 14 and 15 have strong inhibitory activities, with IC₅₀ values of 2.373 and 2.521 μg/mL, respectively.

Key words: *Camellia longituba* Chang; chemical composition; flavonoids; chromones

长管红山茶 *Camellia longituba* Chang 为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)多年生小乔木,最早为1990年中山大学张宏达教授报道^[1],模式标本采自湖北恩施地区。据《中国植物志》第四十九卷第三

分册记载,山茶科植物约有36属,700种,山茶属是山茶科中最大的一个属,山茶属植物在我国有238种,主要分布于西南至东南部,以云南、广西、广东及四川最多^[2]。山茶属植物中的化学成分主要为黄酮类、皂苷类、多酚类、植物甾醇类、脂肪酸类和生物碱类等,其中黄酮类成分主要是黄酮醇类,以槲皮素、山柰酚以及儿茶素最为常见;皂苷类成分主要为齐墩果烷型的五环三萜皂苷。生物活性表现在抗菌、抗突变、抗癌、抗溃疡、抗氧化、降血脂等多方

收稿日期:2022-07-14 接受日期:2022-12-20

基金项目:湖北省技术创新专项(重大项目)(2019ACA120);湖北民族大学博士启动基金(MY2017B029);风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室基金(PT022218);湖北民族大学大学生双创项目(Y202215, Y202210)

*通信作者 Tel:86-718-8437236; E-mail: lingjuncai@163.com

面^[3]。

尿素通道蛋白家族(urea transporters, UTs)是一种转运尿素(urea)的通道蛋白分子,目前已表征的包括 UT-A(UT-A1、UT-A2、UT-A3、UT-A4、UT-A5 和 UT-A6)、UT-B 两个家族^[4],其在肾内尿素循环过程中起重要作用,建立肾髓质组织尿素浓度梯度并参与尿浓缩机制^[5]。UT-B 敲除模型小鼠的肾内髓组织尿素浓度和渗透压降低,且尿浓缩能力下降并不影响其他肾功能和机体的其他主要溶质(Na^+ 、 K^+ 、 Cl^-)的清除率^[6]。所以,UT-B 抑制作用可以在既不引起钾流失,也不影响体液电解质平衡的情况下增加尿量,本研究通过红细胞裂解模型进行 UT-B 抑制剂的筛选。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

薄层色谱分析板(孔山市上段新材料有限公司);暗箱紫外分析仪(ZF-20D,巩义市予华仪器有限责任公司);Bruker DRX 400 MHz 超导核磁共振仪(德国 Bruker 公司,四甲基硅烷(TMS)为内标);GF254 薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂);半制备高效液相色谱仪(HPLC,岛津 LC-20);高速逆流色谱仪(HSCCC,TBE-300C,上海同田生物技术有限公司);酶标仪(1510,赛默飞世尔);96 孔板(美国康宁公司);二甲基亚砜(DMSO)(西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司);有机溶剂为国药集团上海试剂厂产品,其他试剂为分析纯。

长管红山茶叶片于 2019 年 5 月采自湖北省恩施土家族苗族自治州恩施市白果乡,植物标本经湖北民族大学吴增宝副教授鉴定为山茶科山茶属植物长管红山茶 *Camellia longituba* Chang。标本(H20210206)保存于风湿性疾病发生与干预湖北省重点实验室。

1.2 实验与方法

1.2.1 提取与分离

长管红山茶叶片阴干粉碎,取 10 kg,纯水回流提取 3 次,每次 2 h,趁热过滤,滤液浓缩得浸膏 900 g。浸膏硅胶拌样,采用硅胶柱层析梯度洗脱二氯甲烷/甲醇(10:1→1:1),TLC 检识合并得到 2 个组分 A 和 B。

A 经 MDS-300 甲醇水(3:1→1:1)梯度洗脱,得 3 个组分依次为 Fr. A-1 ~ 3,A-1 经 Sephadex LH-20 甲醇水(3:1→1:1)洗脱得 Fr. A-1-1 ~ 12,其经半制备 HPLC 纯化得化合物 **3**(88 mg, $t_{\text{R}} = 23$ min) 和 **4**

(54 mg, $t_{\text{R}} = 36$ min)。A-3 经反相甲醇水(3:1→1:1)梯度洗脱得 Fr. A-3-1 ~ 17。A-3-6 经凝胶甲醇水(1:1)洗脱重结晶得化合物 **5**(963 mg) 和 **7**(26 mg)。A-2 经凝胶甲醇水(1:1)洗脱得 Fr. A-2-1 ~ 8,Fr. A-2-3 经反相甲醇水(1:1)得 Fr. A-2-3-1 ~ 13。Fr. A-2-3-8 经半制备 HPLC 纯化得化合物 **1**(27 mg, $t_{\text{R}} = 16$ min)。

B 经 MDS-300 甲醇水(10:1→1:1)梯度洗脱得 B-1 ~ 10,B-5 经中压反相甲醇水(10:1→1:1)梯度洗脱得 B-5-1 ~ 13,B-5-3 经凝胶甲醇水(1:1)洗脱得 B-5-3-1 ~ 7,B-5-3-3 经半制备 HPLC 纯化得化合物 **6**(41 mg, $t_{\text{R}} = 19$ min),B-5-3-4 经重结晶得化合物 **2**(32 mg)。B-7 经反相甲醇水(10:1→1:1)得 B-7-1 ~ 12,B-7-5 经凝胶甲醇水(1:1)得 B-7-5-1 ~ 9,B-7-5-4 经凝胶甲醇水(1:1)等度洗脱得 B-7-5-4-1 ~ 7,B-7-5-4-3 经 HSCCC 分离得化合物 **8**(11 mg, $t_{\text{R}} = 12$ min)、**9**(8 mg, $t_{\text{R}} = 18$ min)、**10**(43 mg, $t_{\text{R}} = 23$ min) 和 **11**(9 mg, $t_{\text{R}} = 28$ min)。

B-8 经 MDS-300 甲醇水(10:1→1:1)梯度洗脱得 Fr. B-1 ~ 9,Fr. B-8-3 经 Sephadex LH-20 凝胶甲醇水(1:1)等度洗脱得 Fr. B-8-3-1 ~ 19,Fr. B-8-3-5 经凝胶甲醇水(1:1)洗脱得 Fr. B-8-3-5-4,Fr. B-8-3-5-7。Fr. B-8-3-5-4 经半制备 HPLC 乙腈水(1:1)等度纯化得化合物 **13**(23 mg, $t_{\text{R}} = 15$ min)。Fr. B-8-5 经反相甲醇水(10:1 ~ 1:1)梯度洗脱得 Fr. B-8-5-1 ~ 12,Fr. B-8-5-7 经凝胶甲醇水(1:1)洗脱得 Fr. B-8-5-7-1 ~ 14,Fr. B-8-5-7-9、Fr. B-8-5-7-10 经半制备 HPLC 甲醇水等度纯化得化合物 **12**(7 mg, $t_{\text{R}} = 14$ min) 和 **14**(13 mg, $t_{\text{R}} = 22$ min)。Fr. B-8-8 经反相甲醇水(1:1)等度洗脱得 Fr. B-8-8-1 ~ 9,Fr. B-8-8-6 经凝胶甲醇水(1:1)等度洗脱得 Fr. B-8-8-6-1 ~ 3,Fr. B-8-8-6-5 经半制备 HPLC 甲醇水纯化得化合物 **15**(18 mg, $t_{\text{R}} = 20$ min)。

1.2.2 UT-B 抑制物质筛选

将人血样肝素钠抗凝处理,离心 15 min(3 000 r/min)弃上清,加入 10 倍体积的等渗磷酸盐缓冲液(PBS),离心 15 min 弃上清。将高渗 PBS 与红细胞按照 50:1 混合后在室温下孵育 2 h。每个化合物分高浓度(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和低浓度(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)振荡培养 6 min,使用酶标仪在 710 nm 波长下检测吸光度(OD)值,选择 OD 值下降明显的化合物进行梯度实验,调整红细胞悬液和化合物的比例,取 25 μL 化合物,加入 175 μL 红细胞悬液中,混合轻微震荡 6

min, 取上述化合物和红细胞的混合液 20 μL , 加入到 180 μL 的等渗 PBS 中, 终浓度分别为: 500、250、125、62.5、31.25、15.625 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 在 710 nm 波长下检测 OD 值, 按以下公式计算出化合物各浓度的抑制率: 抑制率 = $(OD_{\text{DMSO}} - OD_{\text{样品}}) / (OD_{\text{DMSO}} - 0.045) \times 100\%$, 取量效关系明显的化合物计算 IC_{50} , DMSO 为对照。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 淡黄色粉末; 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.51 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 7.49 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2), 6.79 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.29 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 170.4 (C-1), 118.2 (C-2), 146.6 (C-3), 127.7 (C-1'), 132.5 (C-2', C-6'), 117.8 (C-3', C-5'), 162.0 (C-4')。以上数据与文献^[7]报道一致, 故鉴定化合物 **1** 为对羟基肉桂酸 (结构见图 1)。

化合物 2 淡黄色粉末; 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.61 (1H, dd, $J = 8.6, 1.9$ Hz, H-2'), 7.54 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 6.20 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 5.37 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), 3.26 ~ 3.65 (1H, m, H-3); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 157.6 (C-2), 134.8 (C-3), 178.8 (C-4), 162.5 (C-5), 100.0 (C-6), 165.5 (C-7), 94.9 (C-8), 157.7 (C-9), 105.2 (C-10), 122.4 (C-1'), 116.5 (C-2'), 146.2 (C-3'), 149.8 (C-4'), 117.3 (C-5'), 123.3 (C-6'), 103.2 (C-

1''), 72.5 (C-2''), 74.5 (C-3''), 69.3 (C-4''), 77.1 (C-5''), 61.5 (C-6'')。以上数据与文献^[8]报道一致, 故鉴定化合物 **2** 为槲皮素-3-*O*- β -D-半乳糖苷。

化合物 3 黄色结晶; 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 12.09 (1H, s, 5-OH), 7.86 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-2'), 7.59 (1H, dd, $J = 8.5, 7.0$ Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.43 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 145.5 (C-2), 136.2 (C-3), 176.3 (C-4), 156.6 (C-5), 98.8 (C-6), 164.3 (C-7), 95.3 (C-8), 164.0 (C-9), 104.1 (C-10), 123.6 (C-1'), 114.7 (C-2'), 147.3 (C-3', C-4'), 115.9 (C-5'), 121.2 (C-6')。以上数据与文献^[9]报道一致, 故鉴定化合物 **3** 为槲皮素。

化合物 4 白色结晶; 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$, + 0.4 $^\circ$ (c 0.1, CH_3OH); ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.69 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5'), 6.59 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 6.72 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 5.89 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5.69 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 4.48 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-2), 3.82 (1H, td, $J = 15.6, 7.6$ Hz, H-3), 2.66 (1H, dd, $J = 15.2, 5.2$ Hz, H-4'), 2.35 (1H, dd, $J = 16.0, 8.0$ Hz, H-4); ^{13}C NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 81.5 (C-2), 66.8 (C-3), 28.0 (C-4), 156.9 (C-5), 95.7 (C-6), 156.6 (C-7), 94.3 (C-8), 155.8 (C-9), 99.5 (C-10), 131.1 (C-1'), 115.5 (C-2'), 145.3 (C-3'), 145.3 (C-4'), 115.0 (C-5'), 118.9 (C-6')。以上数据与文献^[10]报道一致, 故鉴定化合物 **4** 为 (+)-儿茶素。

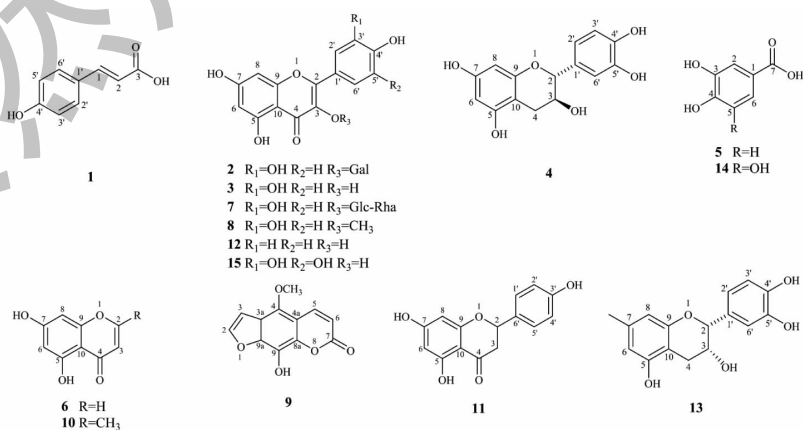


图 1 化合物 1~15 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-15

化合物 5 白色结晶;分子式为 $C_7H_6O_4$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.38 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-4), 7.33 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-2), 6.81 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 122.3 (C-1), 117.0 (C-2), 150.4 (C-3), 145.3 (C-4), 115.7 (C-5), 122.5 (C-6), 168.0 (C-7)。以上数据与文献^[11]报道一致,故鉴定化合物 **5** 为原儿茶酸。

化合物 6 黄色粉末;分子式为 $C_9H_6O_4$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.72 (1H, s, -OH), 8.18 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-2), 6.36 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.27 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-3), 6.20 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 157.9 (C-2), 111.0 (C-3), 181.7 (C-4), 162.2 (C-5), 99.6 (C-6), 165.4 (C-7), 94.6 (C-8), 158.4 (C-9), 105.3 (C-10)。以上数据与文献^[12]报道一致,故鉴定化合物 **6** 为 5,7-二羟基色原酮。

化合物 7 黄色结晶;分子式为 $C_{27}H_{30}O_{16}$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.54 (1H, dd, $J = 8.0, 2.4$ Hz, H-6'), 7.51 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 6.85 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.33 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.37 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1'''), 3.42 (10H, m), 0.98 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'''); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 158.2 (C-2), 135.2 (C-3), 178.6 (C-4), 162.8 (C-5), 98.8 (C-6), 165.8 (C-7), 94.9 (C-8), 158.6 (C-9), 105.1 (C-10), 122.8 (C-1'), 115.3 (C-2'), 145.1 (C-3'), 148.6 (C-4'), 116.1 (C-5'), 120.8 (C-6'), 104.8 (C-1''), 75.2 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.5 (C-4''), 77.3 (C-5''), 68.7 (C-6''), 101.6 (C-1'''), 75.6 (C-2'''), 72.5 (C-3'''), 72.8 (C-4'''), 68.7 (C-5'''), 17.6 (C-6''')。以上数据与文献^[13]报道一致,故鉴定化合物 **7** 为芦丁。

化合物 8 黄色粉末;分子式为 $C_{16}H_{12}O_7$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.73 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-5), 7.61 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 6.96 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2), 6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8'), 6.25 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.1 (C-2), 136.1 (C-3), 176.2 (C-4), 156.6 (C-5), 98.6 (C-6), 164.3 (C-7), 93.8 (C-8), 161.1 (C-9), 103.4 (C-10), 122.4 (C-1'), 115.4 (C-2'), 145.4 (C-3'), 148.0 (C-4'),

115.9 (C-5'), 120.5 (C-6'), 56.7 (OCH₃)。以上数据与文献^[14]报道一致,故鉴定化合物 **8** 为 3-*O*-甲基槲皮素。

化合物 9 淡黄色粉末;分子式为 $C_{12}H_8O_5$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.17 (1H, s, 9-OH), 8.18 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-5), 8.05 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2), 7.30 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3), 6.33 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-6), 4.10 (3H, s, 4-OCH₃); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 146.7 (C-2), 104.2 (C-3), 115.3 (C-3a), 146.7 (C-4), 105.8 (C-4a), 140.4 (C-5), 112.9 (C-6), 160.4 (C-7), 141.7 (C-8a), 125.9 (C-9), 147.5 (C-9a), 61.5 (OCH₃)。以上数据与文献^[15]报道一致,故鉴定化合物 **9** 为 9-羟基-4-甲氧基补骨脂素。

化合物 10 淡黄色固体;分子式为 $C_{10}H_8O_4$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.83 (1H, s, 5-OH), 6.33 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.08 (1H, s, H-3), 2.35 (3H, s, CH₃); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.1 (C-2), 108.4 (C-3), 182.2 (C-4), 158.2 (C-5), 99.2 (C-6), 164.6 (C-7), 94.2 (C-8), 162.0 (C-9), 103.8 (C-10), 20.4 (-CH₃)。以上数据与文献^[16]报道一致,故鉴定化合物 **10** 为去甲丁香色原酮。

化合物 11 黄色粉末;分子式为 $C_{15}H_{12}O_5$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.17 (1H, s, H-5), 7.32 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2', 6'), 6.97 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3', 5'), 5.89 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-6), 5.46 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-8), 5.42 (1H, dd, $J = 12.9, 2.9$ Hz), 3.28 (1H, dd, $J = 17.2, 12.9$ Hz), 2.67 (1H, dd, $J = 17.2, 2.9$ Hz); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 78.9 (C-2), 42.4 (C-3), 196.9 (C-4), 163.4 (C-5), 95.4 (C-6), 167.2 (C-7), 96.3 (C-8), 164.0 (C-9), 102.2 (C-10), 129.3 (C-1'), 128.8 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 158.2 (C-4')。以上数据与文献^[17]报道一致,故鉴定化合物 **11** 为柚皮素。

化合物 12 黄色结晶;分子式为 $C_{15}H_{10}O_6$; 1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.00 (2H, m, H-2', 6'), 6.88 (2H, m, H-3', 5'), 6.39 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 6.14 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8); ^{13}C NMR(101 MHz, DMSO- d_6) δ : 147.3 (C-2), 136.2 (C-3), 176.4 (C-4), 164.6 (C-5), 98.8 (C-6), 159.7 (C-7), 94.0 (C-8), 156.7 (C-9), 103.5 (C-10), 122.2 (C-1'),

130.0(C-2',6'),116.0(C-3',5'),161.2(C-4')。以上数据与文献^[18]报道一致,故鉴定化合物**12**为山柰酚。

化合物 13 白色粉末;分子式为 $C_{15}H_{14}O_6$, + 0.4°(c 0.0082, CH_3OH); 1H NMR(400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 6.85(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.63(1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 6.60(1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-5'), 5.85(1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 5.67(1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 4.63(1H, m, H-2), 3.96(1H, s, H-3), 2.63(1H, dd, $J = 16.3, 4.5$ Hz, H-4b), 2.46 ~ 2.41(1H, m, H-4a); ^{13}C NMR(101 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 78.6(C-2), 65.4(C-3), 28.7(C-4), 156.3(C-5), 95.6(C-6), 156.8(C-7), 94.6(C-8), 157.1(C-9), 99.0(C-10), 131.1(C-1'), 115.3(C-2'), 145.0(C-3'), 145.0(C-4'), 118.5(C-5'), 115.4(C-6')。以上数据与文献^[19]报道一致,故鉴定化合物**13**为(-)-表儿茶素。

化合物 14 白色粉末;分子式为 $C_7H_6O_3$; 1H NMR(400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 6.91(2H, s, H-2,6); ^{13}C NMR(101 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 120.9(C-1), 109.2(C-2,6), 145.9(C-3,5), 138.5(C-4), 168.0(C=O)。以上数据与文献^[20]报道一致,故鉴定化合物**14**为没食子酸。

化合物 15 黄色粉末;分子式为 $C_{15}H_{10}O_8$; 1H NMR(400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.20(2H, s, H-2',6'), 6.33(1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.14(1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8); ^{13}C NMR(101 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 147.4(C-2), 136.4(C-3), 176.3(C-4), 156.6(C-5), 98.7(C-6), 164.4(C-7), 93.7(C-8), 161.2(C-9), 103.5(C-10), 121.3(C-1'), 107.7(C-2',6'), 136.4(C-3',5'), 146.2(C-4')。以上数据与文献^[21]报道一致,故鉴定化合物**15**为杨梅素。

2.2 UT-B 抑制活性物质筛选

以健康成人红细胞为实验材料,710 nm 测定各化合物的吸光度(OD)值,计算抑制率。抑制率高于40%的化合物视为具有 UT-B 抑制活性,得到化合物**3**、**7**、**13**、**14**和**15**抑制率高于40%,具有 UT-B 抑制活性。其中量效关系明显的是化合物**14**和化合物**15**,化合物**14**对红细胞抑制率的 IC_{50} 为 2.373 $\mu g/mL$,化合物**15**对红细胞抑制率的 IC_{50} 为 2.521 $\mu g/mL$,有利尿活性。

3 结论

长管红山茶作为山茶属的新成员,其化学成分

此前一直处于空白状态。为进一步探讨长管红山茶药效基础物质,本研究对其化学成分进行研究,得到了15个单体化合物,其中9个黄酮类化合物,3个酚酸类化合物,2个色原酮及其衍生物,1个香豆素类化合物,并结合质谱、核磁共振波谱等技术阐明了其化学结构。15个化合物均是首次从长管红山茶植物中分离得到,且化合物**1**、**6**、**7**、**8**、**9**、**10**和**11**为首次从山茶属中分离得到。从所分离得到的化合物类型来看,和山茶属的化合物类型基本吻合,以黄酮和酚酸类为主。对化合物进行 UT-B 抑制活性物质筛选,结果表明没食子酸(**14**)和杨梅素(**15**)具有较明显的利尿活性。因此在后续工作中应对此类化合物的作用机制进行深入的研究。本文为长管红山茶的药理研究提供了物质基础,也为长管红山茶的开发应用提供参考。

参考文献

- Zhang HD. New species of Chinese Theaceae[J]. Acta Sci Nat Univ Sunyatseni(中山大学学报:自科版),1990,2:85-93.
- Wang YQ, Wu XJ, Li HB, et al. Research of *Camellia* Linn. on the used to drugs[J]. J Dalian Univ(大连大学学报), 2006,27:47-55.
- Song Y, Shi LY, Lu X, et al. Study on the chemical constituents and pharmacological activities of *Camellia* [J]. China Pharm(中国药房), 2018,29:2143-2148.
- Liu LX. The mechanism of UT-B overexpression inducing B16 melanoma cell death by activating p53 and mitochondrial apoptosis pathway [D]. Changchun: Jilin University(吉林大学), 2019.
- Sands JM. Urea transporter inhibitors: en route to new diuretics[J]. Chem Biol, 2013,20:1201-1202.
- Yang B, Bankir L, Gillespie A, et al. Urea-selective concentrating defect in transgenic mice lacking urea transporter UT-B[J]. J Biol Chem, 2002,277:10633-10637.
- Peng D, Huang J, Peng G, et al. Chemical constituents from rhizomes of *Schoenoplectus tabernaemontani* [J]. Cent South Pharm(中南药学), 2021,19:870-873.
- Huang XX, Gao WY, Zhao ZY, et al. Study on the chemical constituents of *Paris axialis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2010,41:1963-1966.
- Pan LW, Luo ZP, Wei Z, et al. Study on the chemical constituents and anticancer effects of *Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) Van Tiegh. [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2022,34:1338-1344.
- Tang L, Li GY, Yang BY, et al. Study on the chemical con-

- stituents of *Choerospondias axillaris* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2009,40:541-543.
- 11 Huang YL,Chen YY,Yan XJ,et al. Composition of polyphenols in bark of *Castanopsis fargesii* Franch. [J]. Chem Ind For Prod(林产化学与工业),2016,36:135-139.
- 12 Li J,Yu DQ. Chemical constituents from herbs of *Erigeron breviscapus*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2011,36:1458-1462.
- 13 Chen MY,Li Q,Han JJ,et al. Chemical constituents of grown Fructus Forsythiae[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2020,32:2066-2072.
- 14 Wu Q,Hua HM,Li ZL. Isolation and identification of the chemical constituents of *Opuntia dillenii* [J]. China J Med Chem(中国药物化学杂志),2013,23:120-126.
- 15 Piao XL,Baek SH,Park MK,et al. Tyrosinase-inhibitory furanocoumarin from *Angelica dahurica* [J]. Biol Pharm Bull,2004,27:1144-1146.
- 16 Kayed AM,Genady EA,Kadry HA,et al. New phytoconstituents,anti-microbial and cytotoxic activities of *Acacia etbaica* Schweinf[J]. Nat Prod Res,2021,35:5571-5580.
- 17 Shao P,Zhang X,Li C,et al. Chemical constituents from rhizome of *Matteuccia orientalis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2011,42:1481-1484.
- 18 Li MC,Gui HX,Li XL,et al. Study on chemical constituents and their anti-inflammatory and antioxidative activities in Zijuan tea[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2020,32:414-419.
- 19 Liu XY,Xu W,Yang XW,et al. Isolation and identification of flavonoids from *Spatholobi caulis* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2020,45:1384-1392.
- 20 Li J,Jiang H,Lu XM,et al. Constituents from the seeds of *Cornus officinalis*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2021,56:1210-1214.
- 21 Yang Q,Wang XQ,Ding YX. Chemical constituents from the stems of *Xanthoceras sorbifolia*[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2020,42:2062-2066.
- (上接第 220 页)
- 26 Han XL,Li JD,Wang WL,et al. Sweroside eradicated leukemia cells and attenuated pathogenic processes in mice by inducing apoptosis [J]. Biomed Pharmacother,2017,95:477-486.
- 27 Yang G,Jang JH,Kim SW,et al. Sweroside prevents non-alcoholic steatohepatitis by suppressing activation of the NLRP3 inflammasome[J]. Int J Mol Sci,2020,21:2790.
- 28 Huang XJ,Li J,Mei ZY,et al. Gentiopicroside and sweroside from *Veratrum baillonii* Franch. induce phosphorylation of Akt and suppress Pck1 expression in hepatoma cells [J]. Biochem Cell Biol,2016,94:270-278.
- 29 Zhou Z. Analysis of differences in compositions of *Lonicera japonica* Thunb. and *Lonicera Flos* based on serum chemistry and multiomics [D]. Guiyang: Guizhou University(贵州大学),2020.