

蓝桉果实的酚性成分研究

于欢¹, 李敏¹, 张旭¹, 王玲莉¹, 王佳¹, 张冬丽¹, 许嵘^{2*}, 唐生安^{1*}

1. 天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070

2. 泉州医学高等专科学校药学院, 福建 泉州 362011

摘要: 目的 对蓝桉 *Eucalyptus globulus* 果实的化学成分进行研究。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及半制备高效液相色谱法分离纯化, 通过有机波谱方法鉴定化合物结构, 采用 MTT 法测定部分化合物对人乳腺癌细胞 MCF-7 的细胞毒活性。结果 从蓝桉果实石油醚萃取物中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为大黄酚 (1)、eucarobustol E (2)、eucarobustol G (3)、eucalyptal A (4)、eucalyptal C (5)、eucalyptin C (6)、eucalyptin D (7)、eucalyptin E (8)、eucalrobosone A (9)、eucalrobosone C (10)、eucalrobosone F (11)、eucalrobosone U (12)、eucalyptone (13)、euglobal-Ia₁ (14)、euglobal-Ia₂ (15)。细胞毒活性结果显示, 化合物 6、7、10、12、13 对 MCF-7 细胞具有明显细胞毒活性, 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下抑制率分别为 71.83%、71.11%、70.00%、80.53%、79.87%, 化合物 12 对 MCF-7 细胞显示出较强的细胞毒活性, 其半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 13.84 $\mu\text{mol/L}$ 。结论 分离得到的成分均为酚性成分, 其中化合物 1 为首次从桉属植物中分离得到, 化合物 2、3 为首次从该植物中分离得到, 化合物 9~15 为首次从蓝桉果实中分离得到; 大部分化合物在 20 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下表现出较好的抗 MCF-7 细胞活性。

关键词: 蓝桉; 酚性成分; 抗肿瘤活性; 大黄酚; eucarobustol E; eucarobustol G

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)18-5489-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.18.003

Phenolic constituents from fruits of *Eucalyptus globulus*

YU Huan¹, LI Min¹, ZHANG Xu¹, WANG Ling-li¹, WANG Jia¹, ZHANG Dong-li¹, XU Rong², TANG Sheng-an¹

1. Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. School of Pharmacy, Quanzhou Medical College, Quanzhou 362011, China

Abstract: **Objective** To isolate and identify the chemical constituents from the fruits of *Eucalyptus globulus*. **Methods** The monomer compounds were separated and purified by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 gel column chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography, and the structure of the compounds was identified by organic spectroscopy. MTT method was used to detect the cytotoxic activity of partial compounds on MCF-7 cells. **Results** Fifteen compounds were separated from the petroleum ether layer extract of *E. globulus*, which were identified as chrysophanol (1), eucarobustol E (2), eucarobustol G (3), eucalyptal A (4), eucalyptal C (5), eucalyptin C (6), eucalyptin D (7), eucalyptin E (8), eucalrobosone A (9), eucalrobosone C (10), eucalrobosone F (11), eucalrobosone U (12), eucalyptone (13), euglobal-Ia₁ (14) and euglobal-Ia₂ (15). Compounds 6, 7, 10, 12 and 13 had obvious cytotoxic activity on MCF-7 cells with the inhibition rates of 71.83%, 71.11%, 70.00%, 80.53%, and 79.87%, respectively at concentration of 20 $\mu\text{mol/L}$. The compound 12 showed significant cytotoxic activity against MCF-7 with IC_{50} value of 13.84 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Compounds 1—15 are phenolic constituents. Compounds 1 was isolated from *Eucalyptus* for the first time, compounds 2 and 3 were isolated from this plant for the first time, and compounds 9—15 were isolated from the fruits of *E. globulus* for the first time. The cytotoxic activity results showed that most of the compounds showed significant anti-MCF-7 activity at a concentration of 20 $\mu\text{mol/L}$.

Key words: *Eucalyptus globulus* Labill; phenolic constituents; anti-tumor activity; chrysophanol; eucarobustol E; eucarobustol G

收稿日期: 2021-04-28

基金项目: 天津市教委科研计划项目 (2019ZD031)

作者简介: 于欢 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。Tel: 18822002706 E-mail: 825629985@qq.com

*通信作者: 许嵘 (1978—), 男, 副教授, 主要从事表观遗传药物研究。Tel: (0595)22136018 E-mail: xurongabc0806@163.com

唐生安 (1977—), 男, 副教授, 研究方向为天然药物化学。Tel: (022)83336658 E-mail: tangshengnan@tmu.edu.cn

蓝桉 *Eucalyptus globulus* Labill. 为桃金娘科 (Myrtaceae) 桉属 *Eucalyptus* L. Herit 植物, 原产于澳大利亚, 在我国广西、云南、四川等地均有栽培, 其叶、根皮及果实均可入药^[1-2], 是一种重要的药用资源。蓝桉的果实因成熟后其形状酷似倒挂的“小钟”又俗称“一口钟”, 民间俗称扣子七、红喇叭花、胜利果等^[3], 是我国传统民间中草药, 也是蓝桉临床上常用的有效部位。一口钟富含多种挥发油、倍半萜、三萜、间苯三酚衍生物、黄酮和鞣质等化学成分^[4-5], 具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗氧化和降血糖^[6]等多种生物活性。

一口钟在我国分布广泛, 资源丰富。本课题组前期对一口钟石油醚萃取物进行化学成分研究, 发现其主要含有倍半萜和三萜类化合物^[7], 在此基础上, 为了进一步探索其活性成分, 本实验继续对一口钟石油醚萃取物进行研究, 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、以及高效液相色谱技术进行分离, 采用波谱学方法与理化性质相结合鉴定了 15 个化合物, 分别为大黄酚 (chrysophanol, **1**)、eucarobustol **E** (**2**)、eucarobustol **G** (**3**)、eucalyptal **A** (**4**)、eucalyptal **C** (**5**)、eucalyptin **C** (**6**)、eucalyptin **D** (**7**)、eucalyptin **E** (**8**)、eucalrobustone **A** (**9**)、eucalrobustone **C** (**10**)、eucalrobustone **F** (**11**)、eucalrobustone **U** (**12**)、eucalyptone (**13**)、euglobal-Ia₁ (**14**)、euglobal-Ia₂ (**15**)。分离得到的化合物均为酚性成分。其中, 化合物 **1** 为首次从桉属植物中分离得到的, 化合物 **2**、**3** 为首次从该植物中分离得到, 化合物 **9**~**15** 为首次从蓝桉果实中分离得到。其中化合物 **6**、**7**、**10**、**12**、**13** 对 MCF-7 细胞具有明显细胞毒活性, 20 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下抑制率分别为 71.83%、71.11%、70.00%、80.53%、79.87%, 化合物 **12** 对 MCF-7 显示出较强的细胞毒活性, 其半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 13.84 $\mu\text{mol/L}$ 。

1 仪器与材料

Bruker AM-400/500/600 核磁共振仪 (Bruker 公司, 瑞士); Alliance 2695 Quattro Micro TM ESI 液质联用色谱仪 (Waters 公司, 美国); LC3000 型高效液相色谱仪 (北京创新通恒科技有限公司); YMC-Pack ODS-A 制备型 HPLC 色谱柱 (250 mm $\times$ 20 mm); Sephadex LH-20 (美国 GE 公司), 柱色谱硅胶 (100~200、200~300、300~400 目) 和薄层板色谱硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工有限公司产品; 实验所用试剂均为分析纯有机试剂, 为天津市津东

天正精细化学试剂厂产品; 氘代试剂均为 Cambridge Isotope Laboratories Inc. USA 生产; IMark 型全自动酶标仪 (BIO-RAD, 日本)。

一口钟购于河北安国药材批发市场, 产地为云南省, 经天津医科大学药学院唐生安副教授鉴定为桉树植物蓝桉 *Eucalyptus globulus* Labill. 的干燥成熟果实, 标本 (编号 D20151011) 现存放于天津医科大学药学院天然药化实验室。

2 提取与分离

将一口钟药材 (干质量 20 kg) 粉碎, 95%乙醇浸渍, 每次浸渍 3 d, 一共浸渍 5 次, 将浸渍液合并后减压浓缩, 得到乙醇提取物的浸膏 (2992 g)。将乙醇提取物用水混悬, 依次用石油醚、醋酸乙酯萃取 3 次, 分别得到石油醚萃取物 (1592 g)、醋酸乙酯萃取物 (406 g)。

取石油醚萃取物 800 g, 经硅胶柱色谱初步分离, 石油醚: 醋酸乙酯 (60:1 $\rightarrow$ 1:1) 梯度洗脱, 得到 16 个组分 Fr. 1~16。Fr. 6 分别用石油醚-醋酸乙酯 (30:1、15:1、8:1、4:1、2:1) 进行梯度洗脱分离得到 14 个亚组分 Fr. 6.1~6.14。Fr. 6.3 (11 g) 通过 ODS 柱色谱分离, 甲醇-水 (80:20、90:10、95:5、98:2) 梯度洗脱, 共得到 16 个亚组分 Fr. 6.3.1~6.3.16。Fr. 6.3.1 (187.6 mg) 经半制备 HPLC (ODS-A, 甲醇-水 88:12, 0.3%醋酸, 5 mL/min) 分离, 纯化得到化合物 **1** (13.3 mg, t_R =39.1 min); Fr. 6.3.9 (672.9 mg) 经半制备 HPLC (ODS-A, 甲醇-水 88:12, 0.3%醋酸, 5 mL/min) 分离, 纯化得到化合物 **12** (76.9 mg, t_R =182.0 min) 和 **3** (26.3 mg, t_R =194.2 min); Fr. 6.3.11 (105.9 mg) 过半制备液相色谱柱 (ODS-A, 甲醇-水 93:7, 0.3%醋酸, 5 mL/min), 纯化得到化合物 **9** (20.2 mg, t_R =263.9 min)、**10** (73.0 mg, t_R =204.0 min)。将 Fr. 6.8.2 (517.9 mg) 过半制备液相色谱柱 (ODS-A, 甲醇-水 90:10, 0.3%醋酸), 纯化得到化合物 **11** (13.1 mg, t_R =60.5 min)。Fr. 6.8 (7 g) 进行硅胶柱分离 (二氯甲烷-甲醇-醋酸 1000:5:3), 得到 17 个亚组分 Fr. 6.8.1~6.8.17, 将组分 Fr. 6.8.6 与 Fr. 6.8.7 合并, 过半制备 HPLC (ODS-A, 甲醇-水 89:11, 0.3%醋酸, 5 mL/min) 分离, 得到化合物 **6** (7.9 mg, t_R =49.7 min) 和 **8** (8.2 mg, t_R =46.7 min)。Fr. 6.9 (1 g) 过正相硅胶柱 (二氯甲烷-甲醇 4:1, 0.3% 醋酸) 得到化合物 **2** (94.5 mg)。

Fr. 14 (59 g) 组分, 进行硅胶柱分离 [二氯甲

烷-甲醇-乙酸(80:1:1)],得到14个亚组分Fr. 14.1~14.14。Fr. 14.4(26 g)过正相硅胶柱色谱[二氯甲烷-甲醇(10:1)]分离,得到19个亚组分Fr. 14.4.1~14.4.19,组分Fr. 14.4.2(140.6 mg)通过半制备HPLC[ODS-A, 甲醇-水(88:12), 0.3% 醋酸, 5 mL/min]分离,得到化合物**5**(4.8 mg, t_R = 118.3 min)。Fr. 14.5与Fr. 14.6合并,经硅胶柱色谱分离,石油醚-醋酸乙酯(100:1~1:1)梯度洗脱得到19个亚组分Fr. 14.6.1~14.6.19, Fr. 14.6.8和Fr. 14.6.19分别用半制备HPLC纯化[ODS-A, 甲醇-水(86:14), 0.5%醋酸, 5 mL/min],依次得到化合物**4**(35.8 mg)、**13**(264.3 mg)。

Fr. 15经Toyopearl HW-40凝胶柱色谱[二氯甲烷-甲醇(2:1)]分离,得到6个亚组分Fr. 15.1~15.6,其中Fr. 15.1经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-醋酸乙酯-醋酸(40:30:1:1)作为流动相进行分离,得到化合物**14**(27.5 mg)、**15**(17.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**:黄色粉末。ESI-MS m/z : 255 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 12.11 (1H, s, H-8), 12.01 (1H, s, 1-OH), 7.82 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-5), 7.67 (1H, m, H-6), 7.29 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-7), 7.10 (1H, s, 2-OH), 2.47 (3H, s, H-CH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 162.7 (C-1), 119.9 (C-2), 149.4 (C-3), 121.4 (C-4), 124.6 (C-5), 133.3 (C-6), 124.4 (C-7), 162.5 (C-8), 192.6 (C-9), 182.0 (C-10), 137.0 (C-4a), 115.9 (C-8a), 113.8 (C-9a), 133.7 (C-10a), 22.3 (C-CH₃)。上述波谱数据与文献值基本一致^[8],故鉴定化合物**1**为大黄酚。

化合物**2**:浅黄色粉末。ESI-MS m/z : 487 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{42}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 10.54 (1H, s, 8'-CHO), 10.51 (1H, s, 7'-CHO), 3.74 (1H, dd, J = 12.8, 4.4 Hz, H-9'), 3.20 (3H, s, H-OCH₃), 2.59 (1H, dd, J = 12.8, 4.0 Hz, H-10'a), 2.29 (1H, dd, J = 10.0, 4.4 Hz, H-1), 1.25 (3H, s, H-14), 1.19 (3H, overlapped, H-12), 1.19 (3H, overlapped, H-13), 0.99 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-13'), 0.94 (3H, overlapped, H-15), 0.94 (3H, overlapped, H-12'); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 50.3 (C-1), 24.4 (C-2), 35.7 (C-3), 48.7 (C-4), 43.9 (C-5), 27.9 (C-6), 26.1 (C-7), 20.4 (C-8), 37.6 (C-9), 79.6 (C-10), 19.9 (C-11), 29.1 (C-12), 17.8 (C-13), 18.6 (C-14), 21.5 (C-15), 171.4 (C-1'), 106.6 (C-2'), 171.3

(C-3'), 106.6 (C-4'), 170.6 (C-5'), 108.6 (C-6'), 192.3 (C-7'), 192.0 (C-8'), 35.6 (C-9'), 34.6 (C-10'), 27.9 (C-11'), 24.8 (C-12'), 22.4 (C-13'), 47.9 (C-OCH₃)。上述波谱数据与文献报道基本一致^[9],故鉴定化合物**2**为eucarobustol E。

化合物**3**:无定形粉末。ESI-MS m/z : 453 $[M-H]^-$, 确定其分子式为 $C_{28}H_{38}O_5$ 。 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 10.55 (1H, s, 8'-CHO), 10.54 (1H, s, 7'-CHO), 5.22 (1H, s, H-2), 3.58 (1H, dd, J = 11.6, 3.6 Hz, H-9'), 2.45 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-10'a), 1.48 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-2), 1.44 (1H, d, J = 3.2 Hz, H-10'b), 1.42 (3H, s, H-15), 1.20 (3H, overlapped, H-12), 1.20 (3H, overlapped, H-13), 1.05 (3H, overlapped, H-14), 1.05 (3H, overlapped, H-12'), 1.00 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-13'); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 155.1 (C-1), 121.7 (C-2), 43.2 (C-3), 52.7 (C-4), 53.8 (C-5), 30.3 (C-6), 30.7 (C-7), 26.3 (C-8), 39.4 (C-9), 39.6 (C-10), 22.3 (C-11), 30.2 (C-12), 18.2 (C-13), 21.9 (C-14), 24.0 (C-15), 175.4 (C-1'), 109.4 (C-2'), 174.9 (C-3'), 109.1 (C-4'), 173.6 (C-5'), 109.1 (C-6'), 194.0 (C-7'), 193.7 (C-8'), 43.5 (C-9'), 38.7 (C-10'), 30.0 (C-11'), 25.2 (C-12'), 23.4 (C-13')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[9],故鉴定化合物**3**为eucarobustol G。

化合物**4**:浅黄色固体。ESI-MS m/z : $[M+H]^+$ 469, 分子式为 $C_{28}H_{36}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 10.28 (1H, s, CHO-7'), 10.08 (1H, s, CHO-8'), 5.02 (1H, s, H-14b), 5.00 (1H, s, H-14a), 4.83 (1H, s, H-12b), 4.80 (1H, s, H-12a), 4.25 (1H, d, J = 11.4 Hz, H-5), 3.52 (1H, br d, J = 12.2 Hz, H-7), 2.82 (1H, m, H-9a), 2.81 (1H, dd, J = 12.1, 2.0 Hz, H-6), 2.55 (1H, dd, J = 6.8, 2.0 Hz, H-9'), 2.39 (1H, m, H-2b), 2.27 (1H, brd, J = 13.3 Hz, H-9b), 2.10 (1H, m, H-2a), 1.98 (1H, m, H-8a), 1.91 (1H, m, H-3b), 1.85 (3H, s, H-13), 1.73 (1H, m, H-11'), 1.68 (1H, m, H-8b), 1.49 (1H, m, H-10'b), 1.29 (1H, m, H-3a), 1.21 (1H, m, H-10'a), 1.09 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-13'), 1.00 (3H, s, H-15), 0.97 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-12'); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 73.1 (C-1), 33.3 (C-2), 30.5 (C-3), 36.5 (C-4), 76.2 (C-5), 46.3 (C-6), 41.0 (C-7), 24.7 (C-8), 33.1 (C-9), 148.1 (C-10), 149.0 (C-11), 107.7 (C-12), 23.9 (C-13), 110.2 (C-14), 20.1 (C-15), 169.2 (C-1'), 104.4 (C-2'), 168.0 (C-3'), 104.5

(C-4'), 163.1 (C-5'), 108.0 (C-6'), 191.9 (C-7'), 195.5 (C-8'), 38.4 (C-9'), 43.6 (C-10'), 29.1 (C-11'), 22.9 (C-12'), 21.4 (C-13')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **4** 为 eucalyptal A。

化合物 **5**: 黄色粉末。ESI-MS m/z : 469 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{28}H_{36}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 10.32 (1H, s, 7'-CHO), 9.92 (1H, s, 8'-CHO), 5.12 (1H, s, H-14b), 5.10 (1H, s, H-14a), 4.27 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-5), 3.56 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-6), 2.97 (1H, ddd, $J = 13.6, 13.6, 4.7$ Hz, H-9b), 2.86 (1H, dd, $J = 13.6, 4.2$ Hz, H-8a), 2.72 (1H, dd, $J = 7.5, 2.9$ Hz, H-9'), 2.48 (2H, ddd, $J = 14.0, 3.1, 3.1$ Hz, H-2b), 2.34 (1H, m, H-9a), 2.31 (1H, m, H-8b), 2.20 (2H, ddd, $J = 14.0, 14.0, 3.1$ Hz, H-2a), 2.20 (2H, ddd, $J = 14.0, 13.1, 3.1$ Hz, H-3b), 1.84 (3H, s, H-13), 1.78 (3H, s, H-12), 1.29 (1H, m, H-10'a), 1.60 (1H, m, H-10'b), 1.50 (2H, ddd, $J = 13.3, 3.1, 3.1$ Hz, H-3a), 1.16 (3H, d, $J = 6.4$, H-13'), 1.11 (3H, s, H-15), 0.91 (3H, d, $J = 6.4$, H-12'); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 73.9 (C-1), 33.0 (C-2), 30.5 (C-3), 36.0 (C-4), 75.8 (C-5), 48.5 (C-6), 128.0 (C-7), 26.4 (C-8), 33.2 (C-9), 149.6 (C-10), 127.0 (C-11), 20.9 (C-12), 20.7 (C-13), 109.3 (C-14), 19.6 (C-15), 169.3 (C-1'), 104.5 (C-2'), 168.0 (C-3'), 104.5 (C-4'), 163.1 (C-5'), 108.0 (C-6'), 191.9 (C-7'), 192.3 (C-8'), 38.4 (C-9'), 43.3 (C-10'), 28.9 (C-11'), 23.9 (C-12'), 22.6 (C-13')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为 eucalyptal C。

化合物 **6**: 无定形粉末。ESI-MS m/z : 401 $[M-H]^-$, 确定其分子式为 $C_{23}H_{30}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 10.17 (1H, m, CHO-9), 10.05 (1H, m, CHO-8), 5.87 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-2'), 5.66 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-3'), 2.83 (1H, dd, $J = 10.0, 4.0$ Hz, H-7), 2.22 (1H, s, H-6'), 1.90 (1H, dd, $J = 13.6, 2.8$ Hz, H-5'a), 1.79 (1H, overlapped, H-11), 1.79 (1H, overlapped, H-8'), 1.73 (1H, dd, $J = 13.6, 4.4$ Hz, H-10a), 1.70 (1H, m, H-10b), 1.54 (3H, s, H-7'), 1.51 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-10'), 1.50 (1H, m, H-5'b), 0.99 (3H, d, $J = 5.2$ Hz, H-12), 0.98 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-13), 0.94 (3H, m, H-9'); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 104.8 (C-1), 161.9 (C-2), 104.2 (C-3), 168.0 (C-4), 104.3 (C-5), 169.5 (C-6), 35.6 (C-7), 192.2 (C-8), 191.8 (C-9), 43.9 (C-10), 26.4 (C-11),

23.5 (C-12), 21.6 (C-13), 77.3 (C-1'), 137.3 (C-2'), 131.4 (C-3'), 73.0 (C-4'), 38.5 (C-5'), 38.1 (C-6'), 27.9 (C-7'), 36.7 (C-8'), 16.8 (C-9'), 17.1 (C-10')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为 eucalyptin C。

化合物 **7**: 无定形粉末。ESI-MS m/z : 401 $[M-H]^-$, 确定其分子式为 $C_{23}H_{30}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 10.14 (1H, s, 9-CHO), 10.01 (1H, s, CHO-8), 5.91 (1H, m, H-2'), 5.81 (1H, m, H-3'), 3.17 (1H, m, H-7), 2.50 (1H, m, H-10a), 2.09 (1H, m, H-6'), 2.03 (1H, dd, $J = 12.6, 2.8$ Hz, H-5'a), 1.82 (1H, m, H-8'), 1.67 (1H, m, H-11), 1.40 (1H, m, H-10b), 1.39 (3H, s, H-7'), 1.32 (1H, m, H-5'b), 1.02 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-12), 1.00 (3H, s, H-13), 1.00 (3H, s, H-10'), 0.99 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-9'); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 103.2 (C-1), 163.5 (C-2), 104.3 (C-3), 168.0 (C-4), 104.3 (C-5), 170.8 (C-6), 29.1 (C-7), 192.4 (C-8), 191.9 (C-9), 36.2 (C-10), 25.2 (C-11), 24.0 (C-12), 21.0 (C-13), 77.0 (C-1'), 137.9 (C-2'), 130.7 (C-3'), 73.6 (C-4'), 30.7 (C-5'), 36.2 (C-6'), 24.2 (C-7'), 35.0 (C-8'), 16.4 (C-9'), 16.8 (C-10')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为 eucalyptin D。

化合物 **8**: 浅黄色固体。ESI-MS m/z : 487 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{29}H_{42}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, pyridine- d_5) δ : 10.56 (1H, s, 7'-CHO), 10.51 (1H, s, 8'-CHO), 3.62 (1H, m, H-9'), 3.18 (3H, s, H-OCH₃), 2.74 (1H, brt, $J = 12.0$ Hz, H-10'a), 2.33 (1H, overlapped, H-1), 1.57 (1H, overlapped, H-10'b), 1.36 (3H, s, H-15), 1.23 (3H, s, H-12), 1.18 (3H, s, H-14), 1.14 (3H, s, H-13), 1.03 (3H, s, H-12'), 1.02 (3H, s, H-13'); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 53.9 (C-1), 24.8 (C-2), 40.7 (C-3), 50.3 (C-4), 49.5 (C-5), 30.1 (C-6), 26.7 (C-7), 20.9 (C-8), 38.0 (C-9), 80.0 (C-10), 19.9 (C-11), 17.7 (C-12), 29.5 (C-13), 19.0 (C-14), 18.5 (C-15), 171.2 (C-1'), 106.7 (C-2'), 171.4 (C-3'), 106.8 (C-4'), 171.4 (C-5'), 108.8 (C-6'), 192.0 (C-7'), 192.2 (C-8'), 41.6 (C-9'), 36.4 (C-10'), 27.9 (C-11'), 22.2 (C-12'), 25.4 (C-13'), 48.5 (C-OCH₃)。上述波谱数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为 eucalyptin E。

化合物 **9**: 无定形粉末。ESI-MS m/z : 453 $[M-H]^-$, 确定其分子式为 $C_{28}H_{38}O_5$ 。 1H -NMR (400 MHz,

pyridine-*d*₅) δ : 10.55 (1H, s, H-13'), 5.46 (1H, s, H-3), 3.22 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-8'a), 3.20 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-8'b), 3.02 (1H, dd, J = 13.2, 3.2 Hz, H-12'a), 2.79 (1H, dd, J = 13.2, 10.8 Hz, H-12'b), 2.42 (1H, m, H-9'), 1.88 (1H, m, H-8a), 1.82 (1H, m, H-9a), 1.69 (3H, s, H-15), 1.46 (1H, m, H-8b), 1.07 (1H, d, J = 3.6 Hz, H-9b), 1.03 (3H, overlapped, H-10'), 1.01 (3H, d, J = 2.0 Hz, H-12), 1.00 (3H, overlapped, H-11'), 0.93 (3H, s, H-13), 0.87 (3H, s, H-14), 0.54 (1H, m, H-7), 0.46 (1H, m, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 43.9 (C-1), 29.3 (C-2), 121.5 (C-3), 135.5 (C-4), 44.6 (C-5), 24.0 (C-6), 19.8 (C-7), 16.2 (C-8), 34.5 (C-9), 35.5 (C-10), 18.5 (C-11), 28.9 (C-12), 16.1 (C-13), 13.0 (C-14), 21.7 (C-15), 170.5 (C-1'), 107.9 (C-2'), 173.0 (C-3'), 106.9 (C-4'), 167.6 (C-5'), 105.8 (C-6'), 206.8 (C-7'), 23.1 (C-8'), 25.8 (C-9'), 23.4 (C-10'), 23.4 (C-11'), 23.1 (C-12'), 193.2 (C-13'). 上述波谱数据与文献值基本一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为 eucalrobosone A。

化合物 **10**: 白色粉末。ESI-MS m/z : 453 [M-H]⁻, 确定其分子式为 C₂₈H₃₈O₅。¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 10.52 (1H, s, CHO-13'), 5.36 (1H, d, J = 4.4 Hz, H-6), 4.89 (1H, s, H-12b), 4.84 (1H, s, H-12a), 3.15 (2H, d, J = 6.4 Hz, H-8'), 3.03 (1H, dd, J = 13.2, 2.0 Hz, H-12'a), 2.79 (1H, dd, J = 13.2, 10.8 Hz, H-12'b), 2.48 (1H, m, H-4), 2.40 (1H, m, H-9'), 1.88 (1H, overlapped, H-9), 1.85 (1H, overlapped, H-2), 1.81 (1H, overlapped, H-1), 1.74 (3H, s, H-13), 1.65 (1H, m, H-8), 1.54 (1H, m, H-3), 1.16 (3H, s, H-15), 1.13 (3H, s, H-14), 1.00 (3H, s, H-11'), 0.98 (3H, s, H-10'); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 49.8 (C-1), 23.4 (C-2), 34.0 (C-3), 40.0 (C-4), 149.8 (C-5), 124.2 (C-6), 42.3 (C-7), 23.3 (C-8), 34.9 (C-9), 39.1 (C-10), 148.8 (C-11), 112.4 (C-12), 22.7 (C-13), 22.1 (C-14), 23.0 (C-15), 170.1 (C-1'), 108.5 (C-2'), 172.8 (C-3'), 106.8 (C-4'), 167.4 (C-5'), 105.6 (C-6'), 206.8 (C-7'), 53.4 (C-8'), 25.7 (C-9'), 23.4 (C-10'), 23.4 (C-11'), 23.6 (C-12'), 193.2 (C-13'). 上述波谱数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为 eucalrobosone C。

化合物 **11**: 白色粉末。ESI-MS m/z : [M-H]⁻ 383, 确定其分子式为 C₂₃H₂₈O₅。¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 10.54 (1H, s, 13'-CHO), 7.21 (1H, d,

J = 12.0 Hz, H-2), 7.05 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-5), 7.00 (1H, dd, J = 7.6, 1.2 Hz, H-4), 4.13 (2H, s, H-12), 3.14 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-8'), 2.71 (1H, m, H-7), 2.38 (1H, m, H-9'), 2.19 (3H, s, H-10), 1.08 (3H, s, H-8), 1.07 (3H, s, H-9), 1.00 (3H, s, H-10'), 0.99 (3H, s, H-11'); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 138.9 (C-1), 126.1 (C-2), 147.2 (C-3), 124.1 (C-4), 130.7 (C-5), 134.5 (C-6), 34.5 (C-7), 24.7 (C-8), 24.7 (C-9), 19.6 (C-10), 171.0 (C-1'), 106.0 (C-2'), 173.1 (C-3'), 106.0 (C-4'), 168.5 (C-5'), 105.2 (C-6'), 206.7 (C-7'), 53.2 (C-8'), 25.8 (C-9'), 23.4 (C-10'), 23.4 (C-11'), 26.7 (C-12'), 193.4 (C-13')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **11** 为 eucalrobosone F。

化合物 **12**: 白色粉末。ESI-MS m/z : [M-H]⁻ 467, 确定其分子式为 C₂₈H₃₆O₆。¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 10.33 (1H, s, CHO-13'), 10.30 (1H, s, CHO-12'), 4.73 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-2), 3.50 (1H, d, J = 11.2 Hz, H-7'), 2.34 (2H, m, H-3), 1.95 (1H, d, J = 11.2 Hz, H-5), 1.31 (3H, s, H-15), 1.27 (3H, s, H-14), 1.03 (3H, s, H-12), 1.00 (3H, s, H-13), 0.98 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-10'), 0.87 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-11'), 0.56 (1H, m, H-6), 0.47 (1H, m, H-7); ¹³C-NMR (100 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 75.8 (C-1), 91.3 (C-2), 39.9 (C-3), 44.5 (C-4), 47.4 (C-5), 23.5 (C-6), 26.1 (C-7), 22.1 (C-8), 32.4 (C-9), 64.1 (C-10), 20.7 (C-11), 29.0 (C-12), 16.4 (C-13), 23.5 (C-14), 23.9 (C-15), 173.8 (C-1'), 116.1 (C-2'), 170.8 (C-3'), 107.8 (C-4'), 170.8 (C-5'), 105.9 (C-6'), 44.6 (C-7'), 42.4 (C-8'), 26.8 (C-9'), 21.8 (C-10'), 25.1 (C-11'), 194.5 (C-12'), 193.0 (C-13')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **12** 为 eucalrobosone U。

化合物 **13**: 无色粉末。ESI-MS m/z : 487 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₈H₃₈O₇。¹H-NMR (400 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 10.50 (1H, s, CHO-8'), 10.48 (1H, s, CHO-7'), 3.51 (H, dd, J = 11.8, 4.0 Hz, H-9'), 2.71 (1H, dd, J = 13.4, 4.0 Hz, H-10'a), 2.68 (1H, m, H-9b), 2.65 (1H, m, H-2b), 2.54 (1H, dd, J = 9.3, 7.0 Hz, H-9a), 2.50 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-5), 2.37 (1H, m, H-2a), 2.30 (1H, m, H-8a), 2.17 (1H, m, H-3b), 2.05 (3H, s, H-14), 1.78 (1H, dd, J = 9.3, 7.0 Hz, H-8b), 1.75 (1H, dd, J = 10.4, 3.5 Hz, H-3a), 1.55 (1H, m, H-11'), 1.40 (1H, dd, J = 13.4, 4.1 Hz, H-10'b), 1.34 (3H, s, H-15), 1.13 (3H, s, H-12), 1.11 (3H, s, H-13),

0.89 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-13'), 0.86 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-12'), 0.58 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (100 MHz, pyridine- d_5) δ : 221.0 (C-1), 36.4 (C-2), 32.9 (C-3), 48.1 (C-4), 21.2 (C-5), 27.9 (C-6), 25.2 (C-7), 44.9 (C-8), 55.3 (C-9), 208.3 (C-10), 18.3 (C-11), 16.6 (C-12), 29.4 (C-13), 29.6 (C-14), 22.1 (C-15), 173.1 (C-1'), 107.7 (C-2'), 174.1 (C-3'), 107.6 (C-4'), 173.1 (C-5'), 105.9 (C-6'), 192.3 (C-7'), 192.4 (C-8'), 40.2 (C-9'), 36.8 (C-10'), 27.9 (C-11'), 20.2 (C-12'), 24.9 (C-13')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **13** 为 eucalyptone。

化合物 **14**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 387 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_5$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9.93 (1H, s, CHO-8'), 9.89 (1H, s, CHO-7'), 5.79 (1H, dd, $J = 10.1, 4.1$ Hz, H-1), 5.45 (1H, dd, $J = 9.8, 1.9$ Hz, H-6), 2.70 (1H, m, H-9'), 2.00 (1H, m, H-2), 1.52 (3H, s, H-10); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 134.1 (C-1), 38.6 (C-2), 30.1 (C-3), 38.0 (C-4), 77.1 (C-5), 129.1 (C-6), 30.9 (C-7), 20.0 (C-8), 19.9 (C-9), 27.5 (C-10), 106.1 (C-1'), 168.7 (C-2'), 103.6 (C-3'), 166.2 (C-4'), 103.6 (C-5'), 161.4 (C-6'), 190.3 (C-7'), 191.0 (C-8'), 28.3 (C-9'), 43.9 (C-10'), 25.2 (C-11'), 22.9 (C-12'), 20.4 (C-13')。上述波谱数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **14** 为 euglobal-Ia₁。

化合物 **15**: 无色油状物。ESI-MS m/z : 387 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_5$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 10.17 (1H, s, 8'-CHO), 10.06 (1H, s, 7'-CHO), 5.96 (1H, dd, $J = 10.0, 3.5$ Hz, H-1), 5.83 (1H, dd, $J = 10.0, 1.5$ Hz, H-6), 3.17 (1H, m, H-9'), 2.04 (1H, m, H-2), 1.80 (1H, m, H-10'b), 1.57 (1H, dd, $J = 9.4, 11.4$ Hz, H-10'a), 1.40 (3H, s, H-10); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 134.3 (C-1), 40.7 (C-2), 22.4 (C-3), 35.9 (C-4), 78.0 (C-5), 130.5 (C-6), 31.9 (C-7), 20.9 (C-8), 20.6 (C-9), 25.7 (C-10), 104.9 (C-1'), 169.8 (C-2'), 103.9 (C-3'), 167.8 (C-4'), 104.4 (C-5'), 163.3 (C-6'), 191.4 (C-7'), 192.1 (C-8'), 29.7 (C-9'), 36.8 (C-10'), 25.3 (C-11'), 23.5 (C-12'), 21.8 (C-13')。上述波谱数据与文献报道一致^[16], 故化合物 **15** 鉴定为 euglobal-Ia₂。

4 细胞毒活性研究

采用 MTT 法^[17]测定细胞毒活性。将培养好的第 6 代的 MCF-7 细胞以 5×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板, 每孔 200 μL , 置于培养箱中过夜。然后 3

孔为 1 组, 加入终浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 的待测单体化合物, 对照组加入等量含 DMSO 的培养基, 同时设置顺铂为阳性对照组, 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h。取出 96 孔板, 向孔内加入提前放于室温下解冻的 MTT 溶液 (5 mg/mL, 20 μL /孔), 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 4 h 后, 弃上清液, 每孔加 DMSO 150 μL , 震荡 10 min 后于 1 h 内在酶联免疫检测仪上测其波长为 490 nm 的吸光度 (A) 值, 重复测定 3 次, 按照公式计算相应的抑制率, 见表 1。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{给药}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

表 1 部分化合物对 MCF-7 细胞增值的抑制作用

Table 1 Inhibition rate of monomer compounds against MCF-7 cells

化合物	抑制率/%
1	1.93
2	60.00
3	58.85
4	67.78
5	21.78
6	71.83
7	71.11
10	70.00
12	80.53
13	79.87
14	-0.15
15	52.95
顺铂	46.68

结果显示, 当浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 **2**~**4**、**6**、**7**、**10**~**13** 和 **15** 的抑制作用高于阳性药顺铂, 表现出一定的抗肿瘤活性, 其中化合物 **12** 的活性较好, 抑制率达到 80.53%, 其 IC_{50} 值为 13.84 $\mu\text{mol/L}$ 。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘玉明, 李素芳, 吴玉田. 蓝桉研究进展 [J]. 中药材, 2003, 26(6): 461-463.
- [2] 赵军宁, 田兴军, 彭成, 等. 川产道地药材资源保障与高质量发展策略 [J]. 世界中医药, 2020, 15(2): 181-190.
- [3] 谢宗万著 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编-上册 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 897.
- [4] 隋晓丽, 姜红祥. 一口钟化学成分及质量控制研究概况 [J]. 中药材, 2011, 34(5): 823-826.
- [5] 陈斌, 朱梅, 邢旺兴, 等. 蓝桉果实化学成分的研究

- [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(8): 596-597.
- [6] 唐云, 李伟. 蓝桉的化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 923-931.
- [7] 王佳, 许娇娇, 乔卫, 等. 蓝桉果实一口钟化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4336-4339.
- [8] 黎林丽, 李婷, 江冰娅, 等. 链霉菌 CPCC 200510 产生的大黄酚及其类似物的鉴定 [J]. 中国医药生物技术, 2019, 14(5): 394-399.
- [9] Yu Y, Gan L S, Yang S P, *et al.* Eucarobustols A-I, conjugates of sesquiterpenoids and acylphloroglucinols from *Eucalyptus robusta* [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(5): 1365-1372.
- [10] Yin S, Xue J J, Fan C Q, *et al.* Eucalyptals A-C with a new skeleton isolated from *Eucalyptus globulus* [J]. *Org Lett*, 2007, 9(26): 5549-5552.
- [11] Pham T A, Hu X L, Huang X J, *et al.* Phloroglucinols with immunosuppressive activities from the fruits of *Eucalyptus globulus* [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(4): 859-869.
- [12] Shang Z C, Yang M H, Jian K L, *et al.* ¹H-NMR-guided isolation of formyl-phloroglucinol meroterpenoids from the leaves of *Eucalyptus robusta* [J]. *Chem A Eur J*, 2016, 22(33): 11778-11784.
- [13] Shang Z C, Han C, Xu J L, *et al.* Twelve formyl phloroglucinol meroterpenoids from the leaves of *Eucalyptus robusta* [J]. *Phytochemistry*, 2019, 163: 111-117.
- [14] Osawa K, Yasuda H, Morita H, *et al.* Eucalyptone from *Eucalyptus globulus* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(1): 183-184.
- [15] 王佳. 中药一口钟的抗炎活性成分研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2017.
- [16] Mutsuo K, Tokunosuke S, Eiji M, *et al.* The granulation-inhibiting principles from *Eucalyptus globulus* Labill. The structures of euglobal-III, -IV and VII. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(6): 1952-1963.
- [17] Song Z, Xiang X, Li J, *et al.* Ruscogenin induces ferroptosis in pancreatic cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(2): 516-524.

[责任编辑 王文倩]