

## 鹿角锥叶的化学成分及其酪氨酸酶抑制活性研究

司晓燕<sup>1,2</sup>, 王亚凤<sup>2</sup>, 何瑞杰<sup>2</sup>, 阳丙媛<sup>2</sup>, 黄永林<sup>2\*</sup>

1. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541004

2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西 桂林 541006

**摘要:** 目的 对鹿角锥 *Castanopsis lamontii* 叶的化学成分进行分离与鉴定, 并探讨其化学成分对酪氨酸酶活性的影响。方法 综合利用 Sephadex LH-20、Chromatorex C<sub>18</sub>、Diaion HP20SS 等柱色谱分离技术进行分离纯化, 通过化合物的质谱、波谱数据分析及与文献对比鉴定其结构。采用酪氨酸酶多巴速率氧化法, 对分离得到的化合物进行酪氨酸酶抑制活性研究。结果 从鹿角锥叶的甲醇提取物中共分离得到了 13 个化合物, 分别鉴定为 2',3',4',5,6-五羟基-[1,1'-联苯]-2-羧酸(1)、没食子酸(2)、原儿茶酸(3)、鞣花酸(4)、香草酸(5)、丁香酸(6)、脱氢双没食子酸(7)、dehydrotrigallic acid(8)、(-)-莽草酸-4-*O*-没食子酸酯(9)、(-)-莽草酸-5-*O*-没食子酸酯(10)、6-*O*-没食子酰葡萄糖(11)、6-*O*-对羟基苯甲酰葡萄糖(12)、苯甲醇-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(13)。结论 化合物 5、9、13 为首次从锥属植物中分离得到, 化合物 1~13 为首次从鹿角锥中分离得到, 其中化合物 1 为新化合物, 命名为鹿角锥 A。实验结果表明化合物 8 对酪氨酸酶的抑制活性最强, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 值为 (0.31±0.11) μmol/L。

**关键词:** 鹿角锥; 酪氨酸酶; 鹿角锥 A; 香草酸; (-)-莽草酸-4-*O*-没食子酸酯; 苯甲醇-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)19-6214-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.003

## Chemical constituents from leaves of *Castanopsis lamontii* and its tyrosinase inhibitory activities

SI Xiao-yan<sup>1,2</sup>, WANG Ya-feng<sup>2</sup>, HE Rui-jie<sup>2</sup>, YANG Bing-yuan<sup>2</sup>, HUANG Yong-lin<sup>2</sup>

1. School of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541004, China

2. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals and Continuous Utilization of Resources, Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China

**Abstract: Objective** To isolate and identify the chemical constituents from the leaves of *Castanopsis lamontii* and explore the effect of its chemical composition on tyrosinase activity. **Methods** The methanol extracts of *C. lamontii* leaves were isolated and purified by using comprehensive column chromatography separation techniques including Sephadex LH-20, Chromatorex C<sub>18</sub> and Diaion HP20SS, and the structures of the compounds were identified on the basis of the MS, NMR data analysis, as well as comparisons with the data reported in the literatures. The tyrosinase DL-dopa rate oxidation method was used to study the tyrosinase inhibitory activity of the isolated compounds. **Results** Thirteen compounds were isolated and identified as 2',3',4',5,6-pentahydroxy-[1,1'-biphenyl]-2-carboxylic acid (1), gallic acid (2), protocatechuic acid (3), ellagic acid (4), vanillic acid (5), syringic acid (6), dehydrodigallic acid (7), dehydrotrigallic acid (8), 4-*O*-galloyl(-)-shikimic acid (9), 5-*O*-galloyl(-)-shikimic acid (10), 6-*O*-galloylglucose (11), 6-*O*-(*p*-hydroxybenzoyl)-*D*-glucose (12), benzyl *O*-β-*D*-glucopyranoside (13). **Conclusion** Compounds 5, 9 and 13 are isolated from *Castanopsis* genus for the first time, Compounds 1—13 are isolated from the leaves of *C. lamontii* for the first time and compound 1 is identified as a new phenol glucoside named lamontin A. The experimental results showed that compound 8 has the strongest inhibitory activity on tyrosinase, with an IC<sub>50</sub> value of (0.31±0.11) μmol/L.

**Key words:** *Castanopsis lamontii* Hance; tyrosinase; lamontin A; vanillic acid; 4-*O*-galloyl(-)-shikimic acid; benzyl-*O*-β-*D*-glucopyranoside

收稿日期: 2023-04-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82060764); 国家自然科学基金项目 (32060108); 桂林市创新平台与人才计划 (20210102-3); 广西科学院基本科研业务费项目 (CQZC-1901)

作者简介: 司晓燕 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物研发与转化。E-mail: 3520910792@qq.com

\*通信作者: 黄永林, 研究员, 博士, 研究方向为天然产物化学及开发利用。E-mail: hyl@gxib.cn

鹿角锥 *Castanopsis lamontii* Hance 为壳斗科 (Fagaceae) 锥属 *Castanopsis* Spach 植物, 叶厚纸质或近革质, 椭圆形、卵形或长圆形。主要分布于中国广东、广西、云南等省, 生长于海拔 500~2500 m 山地疏或密林中<sup>[1]</sup>。前期研究表明, 锥属植物中主要含有酚酸类、黄酮类、鞣质类、三萜类等化合物, 该属植物中被发现或证实的药理作用包括抗氧化<sup>[2-3]</sup>、抗菌<sup>[4]</sup>、抗肿瘤<sup>[5]</sup>、非选择性抑制艾滋病病毒逆转录酶<sup>[6]</sup>、降低脂质积累<sup>[7]</sup>等。酪氨酸酶是黑色素合成的限速酶, 而黑色素的过量表达会导致色素沉着, 生成雀斑、色斑甚至黑色素瘤。抑制酪氨酸酶的活性可以减少黑色素的生成, 达到祛斑、增白的效果<sup>[8]</sup>。鹿角锥叶中单体化合物对酪氨酸酶是否具有抑制活性还未见报道。为了丰富该属植物化学结构类型, 探究更多的生物活性, 本实验选取鹿角锥叶的甲醇提取物部位进行了化学成分研究, 从中分离鉴定出了 13 个化合物, 分别为 2',3',4',5,6-五羟基-[1,1'-联苯]-2-羧酸 (2',3',4',5,6-pentahydroxy-[1,1'-biphenyl]-2-carboxylic acid, **1**)、没食子酸 (gallic acid, **2**)、原儿茶酸 (protocatechuic acid, **3**)、鞣花酸 (ellagic acid, **4**)、香草酸 (vanillic acid, **5**)、丁香酸 (syringic acid, **6**)、脱氢双没食子酸 (dehydrodigallic acid, **7**)、dehydrotrigallic acid (**8**)、(-)-莽草酸-4-*O*-没食子酸酯 [4-*O*-galloyl(-)-shikimic acid, **9**]、(-)-莽草酸-5-*O*-没食子酸酯 [5-*O*-galloyl(-)-shikimic acid, **10**]、6-*O*-没食子酰葡萄糖 (6-*O*-galloylglucose, **11**)、6-*O*-对羟基苯甲酰葡萄糖 [6-*O*-(*p*-hydroxybenzoyl)-*D*-glucose, **12**]、苯甲醇-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (benzyl *O*-β-*D*-glucopyranoside, **13**)。化合物 **1**、**5**、**9**、**13** 首次从锥属植物中分离得到, 化合物 **1**~**13** 为首次从鹿角锥中分离得到, 其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为鹿角锥 A。并进一步运用酪氨酸酶催化左旋多巴氧化速率法对化合物的酪氨酸酶抑制活性进行了筛选, 结果表明化合物 **8** 对酪氨酸酶的抑制活性最强, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 值为 (0.31±0.11) μmol/L。

## 1 仪器与材料

Brucker Avance 500 MHz 超导核磁共振波谱仪 (Bruker 公司, 德国); LC-MS/IT-TOF 液相色谱-质谱仪 (岛津公司, 日本); 自动接收仪 (Advantec 公司, 日本); EYELAN-1300 型旋转蒸发仪 (东京理化公司, 日本); Sephadex LH-20 (25~100

μm; GE Healthcare Bio-Science AB, Uppsala, 瑞士); Chromatorex C<sub>18</sub> (Fuji Silysia Chemical 公司, 日本); Diaion HP20SS (75~150 μm; Mitsubishi Chemical, Tokyo, 日本); MCI gel CHP 20P (75~150 μm; Mitsubishi Chemical 公司, 日本); Toyopearl Butyl-650C (50~150 μm; TOSOH 公司, 日本); Toyopearl HW-40F (TOSOH 公司, 日本); GF<sub>254</sub> 薄层色谱硅胶 (0.2 mm; Merck KGa A 公司, 德国); TU-1901 型双光束紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); Nicolet 傅里叶红外光谱仪 (Thermo Fisher 公司, 美国); SP-MAX3500FL 多功能酶标仪 (上海闪谱生物科技有限公司); 曲酸 (批号 H3109Z73868, 上海源叶生物科技有限公司); 左旋多巴 (*L*-DOPA, 批号 J20A10S95239, 上海源叶生物科技有限公司); 酪氨酸酶 (批号 C14552807, 上海麦克林生化科技有限公司); 磷酸盐缓冲液 (PBS, 北京索莱宝科技有限公司), 所用试剂甲醇、乙腈等均为分析纯 (AR), 水为纯净水。

鹿角锥叶于 2021 年 9 月采自广西壮族自治区贺州市姑婆山, 经广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所黄俞淞副研究员鉴定为壳斗科锥属植物鹿角锥 *C. lamontii* Hance 的叶, 凭证标本 (20210910) 存放于广西植物功能物质研究与资源持续利用重点实验室。

## 2 方法

### 2.1 提取与分离

取新鲜鹿角锥叶 6.88 kg, 80% 甲醇 40 L 室温浸提 3 次, 每次 7 d, 提取液过滤后合并, 减压浓缩得到水溶液。水溶液经石油醚脱脂, 脱脂后的水溶液经 Sephadex LH-20 凝胶 (10.0 cm×38.0 cm) 柱色谱分离, 以甲醇-水 (0→100%, 每 20% 为 1 梯度, 每梯度 3 L) 为洗脱剂进行梯度洗脱, 分离得到 Fr. 1~9 共 9 个组分。Fr. 1 (20.0 g) 经 Diaion HP20SS 柱色谱 (3.8 cm×38.0 cm) 分离纯化, 以甲醇-水 (0→20%, 每 10% 为 1 梯度) 为洗脱剂梯度洗脱, 得到化合物 **1** (9.7 mg)。Fr. 2 (122.0 g) 经 MCI gel CHP 20P 柱色谱 (7.5 cm×27.0 cm) 分离, 以甲醇-水 (0→100%, 每 10% 为 1 梯度) 为洗脱剂梯度洗脱, 得到 6 个组分 Fr. 2.1~2.6。Fr. 2.1 (6.7 g) 经 Sephadex LH-20、Diaion HP20SS、Toyopearl Butyl-650C 等柱色谱分离纯化, 得到化合物 **2** (26.4 mg)、**7** (8.5 mg)。Fr. 2.6 (6.7 g)

经 Sephadex LH-20 凝胶 (3.3 cm×22.0 cm) 柱色谱分离, 以甲醇-水 (0→100%, 每 10% 为 1 梯度) 为洗脱剂梯度洗脱, 得到化合物 **4** (36.7 mg)。Fr. 3 (55.3 g) 经 MCI gel CHP 20P 柱色谱 (7.5 cm×27.0 cm) 分离, 以甲醇-水 (0→100%, 每 10% 为 1 梯度) 为洗脱剂梯度洗脱, 得到 5 个组份 Fr. 3.1~3.5。Fr. 3.1 (3.9 g) 经 Diaion HP20SS、Toyopearl HW-40F 等柱色谱分离纯化得到化合物 **11** (16.2 mg)。Fr. 3.2 (2.6 g) 经 Chromatorex C<sub>18</sub>、Diaion HP20SS 等柱色谱分离纯化得到化合物 **9** (31.5 mg)、**10** (62.1 mg)。Fr. 3.4 (3.0 g) 经 Sephadex LH-20、Toyopearl HW-40F 等柱色谱分离纯化, 得到化合物 **3** (8.0 mg)、**12** (7.1 mg)。Fr. 3.5 (4.1 g) 经 Chromatorex C<sub>18</sub>、Toyopearl Butyl-650C 等柱色谱分离纯化得到化合物 **13** (10.8 mg)。Fr. 4 (80.5 g) 经 MCI gel CHP 20P 柱色谱 (7.5 cm×27.0 cm) 分离, 以甲醇-水 (0→100%, 每 10% 为 1 梯度) 为洗脱剂梯度洗脱, 得到共 11 个组份 Fr. 4.1~4.11。Fr. 4.2 (1.7 g)、Fr. 4.7 (5.1 g) 经 Sephadex LH-20、Diaion HP20SS 柱色谱分离纯化得到化合物 **8** (84.9 mg)、**5** (6.2 mg)、**6** (29.3 mg)。

## 2.2 酪氨酸酶抑制活性测试

酪氨酸酶抑制活性的测定参照文献方法<sup>[9]</sup>进行, 以左旋多巴为底物 (1 mg/mL), 曲酸为阳性对照。以 96 孔板为载体, 实验分为 4 个组: 反应组、反应对照组、空白组、空白对照组。反应组、反应对照组分别加入 25 μL 不同浓度的样品, 空白组、空白对照组分别加入 25 μL 磷酸缓冲液。随后在反应组和空白组加入 25 μL 酪氨酸酶, 而反应对照组和空白对照组则以等量 PBS 代替酪氨酸酶, 混合均匀, 在 37 °C 孵育 5 min 后各孔再加入 100 μL 的左旋多巴溶液, 继续在 37 °C 保温箱反应 5 min 后, 于波长 475 nm 下测定吸光度 (*A*) 值。实验数据均为 3 次重复后的平均值, 按照下述公式计算酪氨酸酶抑制率, 并用 SPSS 软件计算 IC<sub>50</sub> 值。

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

## 3 结果与分析

### 3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -24.6 (*c* 0.10, MeOH); UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (nm): 215 (3.64); IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3435, 1710, 1639, 1246, 938。与 1% 三氯化铁-乙醇溶液反应呈现深蓝色, 说明该化合物中含有酚羟基。根据高分辨率质谱 HR-ESI-MS 显示分子离子

峰为 *m/z*: 279.044 9 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 279.044 0, C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>O<sub>7</sub>), 提示分子式为 C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>O<sub>7</sub>, 不饱和度为 9。

化合物 **1** 的 <sup>1</sup>H-NMR 谱 (表 1) 显示出 4 个芳香质子信号  $\delta_{\text{H}}$  7.36 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.24 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.05 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.02 (1H, d, *J* = 8.6 Hz), 根据其偶合常数可知, 化合物 **1** 中存在 2 组 AAAB 系统苯环。在 <sup>13</sup>C-NMR 中显示有 13 个碳信号, 其中  $\delta_{\text{C}}$  111.1, 113.4, 121.1, 126.8, 146.5, 144.7, 109.8, 110.9, 121.1, 148.8, 143.4, 157.7 的 12 个碳信号, 证实化合物中存在 2 组四取代苯环, 另一个碳信号为  $\delta_{\text{C}}$  168.3, 说明化合物中还存在 1 个羧基。

表 1 化合物 **1** 的 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据 (500/125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>)

Table 1 <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR data of compound **1** (500/125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>)

| 碳位 | $\delta_{\text{H}}$             | $\delta_{\text{C}}$ |
|----|---------------------------------|---------------------|
| 1  |                                 | 126.8               |
| 2  |                                 | 121.1               |
| 3  | 7.24 (1H, d, <i>J</i> = 8.6 Hz) | 113.4               |
| 4  | 7.05 (1H, d, <i>J</i> = 8.6 Hz) | 111.1               |
| 5  |                                 | 146.5               |
| 6  |                                 | 144.7               |
| 7  |                                 | 168.3               |
| 1' |                                 | 121.1               |
| 2' |                                 | 148.8               |
| 3' |                                 | 143.4               |
| 4' |                                 | 157.7               |
| 5' | 7.02 (1H, d, <i>J</i> = 8.6 Hz) | 109.8               |
| 6' | 7.36 (1H, d, <i>J</i> = 8.6 Hz) | 110.9               |

如图 1 所示, 化合物的 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱中显示  $\delta_{\text{H}}$  7.36 (1H, d, *J* = 8.6 Hz) 和  $\delta_{\text{H}}$  7.02 (1H, d, *J* = 8.6 Hz) 相关, 说明 C-5' 与 C-6' 相连。 $\delta_{\text{H}}$  7.24 (1H, d, *J* = 8.6 Hz) 和  $\delta_{\text{H}}$  7.05 (1H, d, *J* = 8.6 Hz) 相关, 说明 C-3 与 C-4 相连。以及在 HMBC 谱中显示  $\delta_{\text{H}}$  7.24 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3) 与  $\delta_{\text{C}}$  168.3 (C-7), 126.8 (C-1), 121.1 (C-2), 111.1 (C-4),  $\delta_{\text{H}}$  7.05 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-4) 与  $\delta_{\text{C}}$  121.1 (C-2), 113.4 (C-3), 146.5 (C-5) 远程相关;  $\delta_{\text{H}}$  7.02 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5') 与  $\delta_{\text{C}}$  121.1 (C-1'), 143.4 (C-3'), 157.7 (C-4'),  $\delta_{\text{H}}$  7.36 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-6') 与  $\delta_{\text{C}}$  121.1 (C-1'), 109.8 (C-5') 远程相关。综上所述, 化合物 **1** 的结构确定如图 1 所示, 命名为鹿角锥 A。

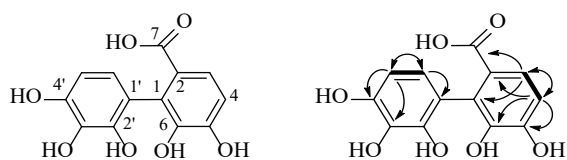


图1 化合物1的结构及关键HMBC(—)、<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY(---)相关图谱

Fig. 1 Chemical structure and key HMBC (—), <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY (---) correlations of compound 1

化合物 2: 白色粉末; ESI-MS  $m/z$ : 169 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.06 (2H, s, H-2, 6); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 168.7 (C-7), 145.0 (2C, C-3, 5), 138.1 (C-4), 120.9 (C-1), 109.4 (2C, C-2, 6)。以上数据与文献报道一致<sup>[10]</sup>, 故鉴定化合物 2 为没食子酸。

化合物 3: 白色针状结晶(丙酮); ESI-MS  $m/z$ : 153 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.44 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2), 7.39 (1H, dd,  $J = 2.1, 8.2$  Hz, H-6), 6.86 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 169.0 (C-7), 150.5 (C-4), 145.2 (C-3), 123.3 (C-6), 122.5 (C-1), 117.2 (C-2), 115.5 (C-5)。以上数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 3 为原儿茶酸。

化合物 4: 黄色粉末; ESI-MS  $m/z$ : 301 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>14</sub>H<sub>6</sub>O<sub>8</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 8.13 (2H, s, H-4, 9); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ: 160.9 (2C, C-5, 10), 150.7 (2C, C-3, 8), 142.2 (2C, C-2, 7), 138.1 (2C, C-1a, 6a), 113.8 (2C, C-4b, 9b), 112.1 (2C, C-4, 9), 109.0 (2C, C-4a, 9a)。该数据与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 4 为鞣花酸。

化合物 5: 白色晶体(甲醇); ESI-MS  $m/z$ : 167 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.56 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 7.55 (1H, dd,  $J = 2.0, 8.7$  Hz, H-6), 6.84 (1H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-5), 3.89 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 170.2 (C-7), 152.6 (C-4), 148.6 (C-3), 125.3 (C-6), 123.2 (C-1), 115.8 (C-2), 113.9 (C-5), 56.4 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 5 为香草酸。

化合物 6: 浅黄色无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 197 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.32 (2H, s, H-2, 6), 3.88 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 169.9 (C-7), 148.8 (2C, C-3, 5), 141.7 (C-4), 121.9 (C-1), 108.4 (2C, C-2, 6), 56.8 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献

报道一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 6 为丁香酸。

化合物 7: 白色无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 337 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O<sub>10</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.21 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-2), 7.11 (1H, s, H-6), 6.66 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 168.9 (C-7), 167.7 (C-7'), 147.1 (C-3), 145.2 (C-5), 142.2 (C-5'), 139.4 (C-3'), 139.2 (C-4), 139.1 (C-4), 136.5 (C-2'), 120.5 (C-1), 114.5 (C-1'), 111.2 (C-2), 109.2 (C-6'), 107.0 (C-6)。以上数据与文献报道一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 7 为脱氢双没食子酸。

化合物 8: 淡黄色无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 505 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>O<sub>15</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.31 (1H, s, H-6''), 7.19 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-6), 6.85 (2H, brs, H-2, 6''); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 168.3 (C-7), 168.2 (C-7'), 166.8 (C-7''), 147.8 (C-5), 145.8 (C-3), 144.3 (C-5'), 143.7 (C-5''), 142.1 (C-4), 141.1 (C-3'), 140.5 (C-3''), 140.0 (C-4''), 139.9 (C-4), 139.8 (C-2''), 138.7 (C-2'), 121.3 (C-1), 115.8 (C-1''), 114.3 (C-1'), 113.2 (C-6), 112.2 (C-6'), 108.8 (C-6''), 108.7 (C-2)。以上数据与文献报道一致<sup>[16]</sup>, 故鉴定化合物 8 为 dehydrotrigallic acid。

化合物 9: 类白色无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 325 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.06 (2H, s, H-2', 6'), 6.80 (1H, brs, H-6), 5.08 (1H, dd,  $J = 4.1, 7.4$  Hz, H-4), 4.66 (1H, brs, H-5), 4.25 (1H, m, H-3), 2.65 (1H, dd,  $J = 4.9, 18.4$  Hz, H-2b), 2.29 (1H, dd,  $J = 5.2, 18.4$  Hz, H-2a); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 169.2 (C-7), 167.1 (C-7'), 145.7 (2C, C-3', 5'), 138.9 (C-4), 138.1 (C-1), 130.1 (C-6), 121.1 (C-1'), 110.0 (2C, C-2', 6'), 74.3 (C-4), 65.0 (C-3), 64.9 (C-5), 31.4 (C-2)。以上数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 9 为 (-)-莽草酸-4-*O*-没食子酸酯。

化合物 10: 类白色无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 325 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.06 (2H, s, H-2', 6'), 6.70 (1H, brs, H-6), 5.62 (1H, brs, H-5), 4.12 (1H, m, H-3), 3.95 (1H, m, H-4), 2.71 (1H, dd,  $J = 4.8, 18.4$  Hz, H-2b), 2.21 (1H, dd,  $J = 5.5, 18.4$  Hz, H-2a); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 169.1 (C-7), 167.0 (C-7'), 145.4 (2C, C-3', 5'), 139.0 (C-4'), 133.8 (C-6), 132.6 (C-1),

120.5 (C-1'), 110.0 (2C, C-2', 6'), 70.2 (C-5), 69.9 (C-4), 67.3 (C-3), 31.0 (C-2)。以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为 (-)-莽草酸-5-*O*-没食子酸酯。

化合物 **11**: 白色粉末; ESI-MS  $m/z$ : 355 [M+Na]<sup>+</sup>, C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>10</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.06 (2H, s, H- $\alpha$ -2', 6'), 7.05 (2H, s, H- $\beta$ -2', 6'), 5.10 (1H, d,  $J$  = 3.6 Hz, H- $\alpha$ -1), 4.55 (1H, d,  $J$  = 7.9 Hz, H- $\beta$ -1), 4.48 (1H, dd,  $J$  = 2.1, 12.0 Hz, H- $\alpha$ -6a), 4.45 (1H, dd,  $J$  = 2.1, 12.0 Hz, H- $\beta$ -6a), 4.25~4.28 (2H, m, H- $\alpha$ ,  $\beta$ -6b), 4.00~4.02 (2H, m,  $\alpha$ , H- $\beta$ -5), 3.71 (1H, t,  $J$  = 9.3 Hz, H- $\beta$ -4), 3.58~3.61 (1H, m, H- $\alpha$ -5), 3.42~3.44 (4H, m,  $\alpha$ -H-2~4, H- $\beta$ -3), 3.20~3.23 (1H, m, H- $\beta$ -2); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, acetone-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 167.6 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -7'), 145.6 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -3'), 145.5 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -5'), 138.9 (C- $\alpha$ -4'), 138.8 (C- $\beta$ -4'), 120.7 (C- $\alpha$ -1'), 120.6 (C- $\beta$ -1'), 109.8 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -2'), 109.7 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -6'), 97.0 (C- $\alpha$ -1), 92.8 (C- $\beta$ -1), 76.6 (C- $\alpha$ -3), 75.0 (C- $\beta$ -3), 74.3 (C- $\alpha$ -5), 73.6 (C- $\beta$ -5), 72.5 (C- $\alpha$ -4), 70.7 (C- $\beta$ -4), 70.0 (C- $\alpha$ -6), 64.3 (C- $\beta$ -6)。以上数据与文献报道一致<sup>[19]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为 6-*O*-没食子酰葡萄糖。

化合物 **12**: 白色无定形粉末; ESI-MS  $m/z$ : 299 [M-H]<sup>-</sup>, C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.90 (2H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H- $\beta$ -2', 6'), 7.88 (2H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H- $\alpha$ -2', 6'), 6.82 (2H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H- $\beta$ -3', 5'), 6.81 (2H, d,  $J$  = 8.8 Hz, H- $\alpha$ -3', 5'), 5.11 (1H, d,  $J$  = 3.7 Hz, H- $\alpha$ -1), 4.59 (1H, dd,  $J$  = 2.0, 11.9 Hz, H- $\beta$ -6a), 4.54 (1H, dd,  $J$  = 2.0, 11.9 Hz, H- $\alpha$ -6a), 4.52 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H- $\beta$ -1), 4.40 (1H, dd,  $J$  = 5.5, 11.9 Hz, H- $\beta$ -6b), 4.38 (1H, dd,  $J$  = 5.5, 11.9 Hz, H- $\alpha$ -6b), 4.07 (1H, m, H- $\alpha$ -5), 3.71 (1H, t,  $J$  = 9.3 Hz, H- $\beta$ -3), 3.59 (1H, m, H- $\beta$ -5), 3.37~3.43 (4H, m, H- $\alpha$ -2~4, H- $\beta$ -4), 3.17 (1H, m, H- $\beta$ -2); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 168.2 (C- $\beta$ -7'), 168.1 (C- $\alpha$ -7'), 163.6 (C- $\beta$ -4'), 163.5 (C- $\alpha$ -4'), 132.9 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -3'), 132.8 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -5'), 122.3 (C- $\beta$ -1'), 122.2 (C- $\alpha$ -1'), 116.2 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -2'), 116.1 (2C, C- $\alpha$ ,  $\beta$ -6'), 98.3 (C- $\beta$ -1), 94.0 (C- $\alpha$ -1), 78.0 (C- $\beta$ -3), 76.3 (C- $\beta$ -5), 75.6 (C- $\beta$ -2), 74.8 (C- $\alpha$ -3), 73.8 (C- $\alpha$ -5), 72.1 (C- $\alpha$ -2), 71.8 (C- $\beta$ -4), 70.9 (C- $\alpha$ -4), 65.1 (C- $\alpha$ -6), 65.0 (C- $\beta$ -6)。以上数据与文献报道一致<sup>[20]</sup>, 故鉴定化合物 **12** 为 6-*O*-对羟基苯甲酰葡萄糖。

化合物 **13**: 白色粉末; ESI-MS  $m/z$ : 293 [M+Na]<sup>+</sup>, C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.42 (2H, d,  $J$  = 7.3 Hz, H-2, 6), 7.32 (2H, t,  $J$  = 7.3 Hz, H-3, 5), 7.27 (1H, d,  $J$  = 7.3 Hz, H-4), 4.93 (1H, d,  $J$  = 11.8 Hz, H-7a), 4.66 (1H, d,  $J$  = 11.8 Hz, H-7b), 4.35 (1H, d,  $J$  = 7.8 Hz, H-1'), 3.89 (1H, dd,  $J$  = 2.1, 11.9 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd,  $J$  = 5.6, 11.9 Hz, H-6'b), 3.28~3.33 (4H, m, H-2'~5'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 139.1 (C-1), 129.3 (2C, C-3, 5), 129.2 (2C, C-2, 6), 128.7 (C-4), 103.3 (C-1'), 78.1 (C-3'), 78.0 (C-5'), 75.1 (C-2'), 71.8 (C-4'), 71.7 (C-7), 62.8 (C-6)。以上数据与文献报道一致<sup>[21]</sup>, 故鉴定化合物 **13** 为苯甲醇-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

### 3.2 酪氨酸酶抑制活性测试结果

按“2.2”项所述方法平行测定 3 次取平均值, 实验结果显示阳性药曲酸的 IC<sub>50</sub> 为 (0.83±0.14)  $\mu$ mol/L, 化合物 **7** 对酪氨酸酶的抑制作用与阳性对照相当, 化合物 **8** 的 IC<sub>50</sub> 值为 (0.31±0.11)  $\mu$ mol/L, 显示较强的酪氨酸酶抑制活性。实验结果见表 2。

表 2 酪氨酸酶抑制活性的测试结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )  
Table 2 Results of tyrosinase inhibitory activity ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

| 化合物       | IC <sub>50</sub> /( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> ) |
|-----------|---|
| <b>1</b>  | 9.51±0.71***                                    |
| <b>2</b>  | 8.41±0.41***                                    |
| <b>3</b>  | 32.13±0.70***                                   |
| <b>7</b>  | 0.81±0.13                                       |
| <b>8</b>  | 0.31±0.11**                                     |
| <b>9</b>  | 2.07±0.14***                                    |
| <b>10</b> | 2.09±0.12***                                    |
| 曲酸        | 0.83±0.14                                       |

与阳性对照比较, \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$

\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs positive control

## 4 讨论

本研究从鹿角锥叶的甲醇提取部位共分离得到了 13 个化合物, 均为酚酸及其苷类化合物。化合物 **1**、**5**、**9**、**13** 首次从锥属植物中分离得到, 化合物 **1**~**13** 为首次从该植物中分离得到, 其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为鹿角锥 A。同时发现化合物 **8** 具有较强的酪氨酸酶抑制活性。此次研究丰富了鹿角锥叶的化学成分种类及生物活性, 为深入研究鹿角锥的物质基础奠定了基础, 也为这一植物资源的合理开发及可持续利用提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. (第八十卷第二分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 74.
- [2] 李思雯. 瓦山锥叶中化学成分及其抗氧化活性研究 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2020.
- [3] 王亚凤. 锥属植物栲中多酚类成分及抗氧化研究 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2016.
- [4] Khan M R, Kihara M, Omoloso A D. Antimicrobial activity of *Castanopsis acuminatissima* [J]. *Fitoterapia*, 2001, 72(2): 174-176.
- [5] 鲁玉妙, 马惠玲. 植物多酚SCI文献计量及生物活性研究热点分析 [J]. 食品科学, 2013, 34(23): 375-383.
- [6] Chang C W, Lin M T, Lee S S, et al. Differential inhibition of reverse transcriptase and cellular DNA polymerase- $\alpha$  activities by lignans isolated from Chinese herbs, *Phyllanthus myrtifolius* Moon, and tannins from *Lonicera japonica* Thunb. and *Castanopsis hystrix* [J]. *Antiviral Res*, 1995, 27(4): 367-374.
- [7] Wang Y F, Pang N, Liang Z H, et al. Two truxinate derivatives and a phenylidilactone from the leaves of *Castanopsis eyrei* [J]. *Nat Prod Res*, 2022, doi: 10.1080/14786419.2022.2095636.
- [8] 丁大鹏, 马文丽, 郑文岭. 酪氨酸酶抑制剂的研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2005, 21(12): 1364-1366.
- [9] 王亚凤, 李思雯, 何瑞杰, 等. 瓦山锥化学成分及其酪氨酸酶抑制活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(9): 1499-1505.
- [10] 谭培艺, 王春杰, 于欢, 等. 丁香蒲桃果实母丁香化学成分研究 [J]. 中草药, 2022, 53(11): 3280-3285.
- [11] 李格菲, 谭庆白, 林俊芝, 等. 余甘子加工沉淀固体废物中活性成分鉴定与提取工艺优化 [J]. 世界中医药, 2022, 17(19): 2699-2704.
- [12] 娜黑芽, 张晓玲, 陈怡璇, 等. 药用沙棘果汁中 1 个新的黄酮苷类化合物 [J]. 中草药, 2022, 53(3): 659-666.
- [13] Prachayasittikul S, Suphamong S, Worachartcheewan A, et al. Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr [J]. *Molecules*, 2009, 14(2): 850-867.
- [14] Phadungkit M, Luanratana O. Anti-*Salmonella* activity of constituents of *Ardisia elliptica* Thunb. [J]. *Nat Prod Res*, 2006, 20(7): 693-696.
- [15] 戴天歌. 饭甃青冈叶化学成分及抗氧化活性研究 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2020.
- [16] 庞闹, 王亚凤, 何瑞杰, 等. 甜楮化学成分研究 (I) [J]. 中药材, 2018, 41(9): 2116-2119.
- [17] 冯卫生, 高丽, 郑晓珂, 等. 泽漆的多酚类成分 [J]. 中国天然药物, 2009, 7(1): 37-39.
- [18] 丁岗, 刘延泽, 宋毛平, 等. 诃子中的多元酚类成分 [J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(3): 193-196.
- [19] 魏欢, 杨建文, 颜小捷, 等. 核桃青皮的化学成分研究: 酚类化合物 [J]. 广西植物, 2018, 38(4): 463-468.
- [20] Kaneko T, Ohtani K, Kasai R, et al. *N*-Alkyl glycosides and *p*-hydroxybenzoyloxy glucose from fruits of *Crescentia cujete* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 47(2): 259-263.
- [21] Simona D M, Carmen F, Franco Z, et al. Phenolic glycosides from *Cucumis melo* var. *inodorus* seeds [J]. *Phytochemistry Lett*, 2009, 2(3): 130-133.

[责任编辑 王文倩]