

• 化学成分 •

大苞藤黄叶化学成分研究

梅 贵¹, 陆正阳², 谷英姿¹, 石 可¹, 熊 慧¹, 陈 玉², 杨光忠^{1,3*}

1. 中南民族大学药学院, 湖北 武汉 430074

2. 中南民族大学化学与材料科学学院, 湖北 武汉 430074

3. 国家中医药管理局民族药三级实验室, 湖北 武汉 430074

摘要: 目的 研究大苞藤黄 *Garcinia bracteata* 叶化学成分。方法 采用正、反相硅胶柱色谱及高效液相色谱等多种技术进行分离纯化, 并通过 NMR、HR-ESI-MS 以及量子化学计算鉴定化合物结构。通过 CCK-8 方法, 评价了所有化合物对人非小细胞肺癌细胞 A549 体外抗增殖活性。**结果** 从大苞藤黄叶醋酸乙酯提取物中分离得到了 12 个化合物, 分别鉴定为 1,3,5-三羟基-5,6,7,8-四氢呋喃酮 (1)、1,3-二羟基-5-羰基-5,6,7,8-四氢呋喃酮 (2)、1,3,5,6-四羟基-8-异戊烯基缩酚酸环醚 (3)、松脂醇 (4)、对羟基苯丙烯酸 (5)、3-甲氧基-4,4',5-三羟基联苯 (6)、(2*S*)-2,9-巨豆二羟基-6-烯-1-酮 (7)、(2*R*)-2,9-巨豆二羟基-6-烯-1-酮 (8)、(5*Z*)-9-羟基-1,5-巨豆二烯-2-酮 (9)、2-氧代- α -紫罗兰醇 (10)、黑麦草内酯 (11)、gardeterpenone A (12)。**结论** 化合物 1、2 为新的呋喃酮类化合物, 化合物 3 为新的缩酚酸类化合物, 分别命名为大苞藤黄甲素、大苞藤黄乙素和大苞藤黄丙素 (garbractinones A-C); 化合物 7~10 为降倍半萜类化合物, 化合物 11、12 为单萜类化合物, 均是首次从大苞藤黄叶中分离得到。所有化合物 (50 $\mu\text{mol/L}$) 对 A549 细胞没有表现明显的抗增殖活性, 其抑制率小于 50%。

关键词: 藤黄属; 大苞藤黄叶; 呋喃酮; 缩酚酸环醚; 降倍半萜; 大苞藤黄甲素; 大苞藤黄乙素; 大苞藤黄丙素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)03-0697-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.03.001

Chemical constituents from the leaves of *Garcinia bracteata*

MEI Gui¹, LU Zhengyang², GU Yingzi¹, SHI Ke¹, XIONG Hui¹, CHEN Yu², YANG Guangzhong^{1,3}

1. School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China

2. School of Chemistry and Materials Science, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China

3. Ethnopharmacology Level 3 Laboratory, National Administration of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430074, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the leaves of *Garcinia bracteata*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by positive and reversed phase silica gel column chromatography and high performance liquid chromatography, and their structures were elucidated using NMR, HR-ESI-MS, and quantum chemical calculation. The anti-proliferative activity of all isolated compounds on human non-small cell lung cancer cell A549 was evaluated by CCK-8 method. **Results** A total of 12 compounds were isolated from the ethyl acetate extract of *G. bracteata* and identified as 1,3,5-trihydroxy-5,6,7,8-tetrahydroxanthone (1), 1,3-dihydroxy-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroxanthone (2), 1,3,5,6-tetrahydroxy-8-prenyldepsidone (3), pinosresinol (4), 3-(4-hydroxyphenyl) acrylic acid (5), [1,1'-biphenyl]-3- methoxy-4,4',5-triol (6), (2*S*)-2,9-dihydroxy-megastigm-6-en-1-one (7), (2*R*)-2,9-dihydroxy-megastigm-6-en-1-one (8), (5*Z*)-9-hydroxy-1,5-megastigmadien-2-one (9), 2-oxo- α -ionol (10), lolilide (11), and gardeterpenone A (12). **Conclusion** Compounds 1 and 2 are new tetrahydroxanthones, and compound 3 is a new depsidone. These compounds are named as garbractinones A—C. Compounds 7—10 are nor-sesquiterpenoids, and compounds 11—12 are monoterpenoids, all of which were isolated from the leaves of *G. bracteata* for the first time. At a concentration of 50 $\mu\text{mol/L}$, all isolated compounds showed no obvious anti-proliferative activity on human non-small cell lung cancer cell A549, and their inhibition rate was less than 50%.

收稿日期: 2023-11-09

基金项目: 国家重点研发项目 (2022YFC3502200)

作者简介: 梅 贵, 女, 硕士研究生。E-mail: 384447532@qq.com

*通信作者: 杨光忠, 男, 博士, 教授, 主要从事中药物质基础的研究。Tel: (027)67841196 E-mail: yanggz888@126.com

Key words: *Garcinia L.*; leaves of *Garcinia bracteata*; xanthone; depsidone; nor-sesquiterpenoid; garbractinone A; garbractinone B; garbractinone C

大苞藤黄 *Garcinia bracteata* C. Y. Wu ex Y. H. Li, 又称为花皮树、万年果(云南麻栗坡),为藤黄科(Guttiferae)藤黄属 *Garcinia L.*植物,主要分布于中国云南南部至广西南部,生于海拔400~1300 m的石灰山杂林中。藤黄属植物用于治疗多种疾病,如炎症、氧化应激、微生物感染和癌症。大苞藤黄果实可食用且具有极高的营养价值,富含维生素、蛋白质和矿物质等多种营养成分^[1-2]。近年来,通过对其茎皮^[3]、叶^[3-7]、枝干^[2,8-11]及果实^[11-12]的植物化学研究发现该植物含有多环多异戊烯基间苯三酚类化合物(polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols, PPAPs)、二苯甲酮衍生物、呔酮、黄酮、三萜、甾体、联苯等多种结构类型的化学成分,其中呔酮和PPAPs是其特征及活性成分。课题组前期从大苞藤黄果实中分离出一系列结构新颖的PPAPs和呔酮类化合物,并展现出抗肿瘤、抗炎和降血糖等多种生物活性^[13-16]。为进一步实现药用植物的可持续利用和发现结构新颖的天然产物,本研究对大苞藤黄叶的化学成分进行了系统研究,采用正、反相硅胶柱色谱及半制备高效液相色谱等多种分离技术进行分离纯化,并通过波谱学数据和量子化学的计算鉴定化合物结构。从大苞藤黄叶醋酸乙酯提取物中分离得到了12个化合物(图1),分别鉴定为1,3,5-三羟基-5,6,7,8-四氢呔酮(1,3,5-trihydroxy-5,6,7,8-

tetrahydroxanthone, **1**)、1,3-二羟基-5-羰基-5,6,7,8-四氢呔酮(1,3-dihydroxy-5-oxo-5,6,7,8-tetrahydroxanthone, **2**)、1,3,5,6-四羟基-8-异戊烯基缩酚酸环醚(1,3,5,6-tetrahydroxy-8-prenyl-depsidone, **3**)、松脂醇(pinoresinol, **4**)、对羟基苯丙烯酸[3-(4-hydroxyphenyl)acrylic acid, **5**]、3-甲氧基-4,4',5-三醇联苯([1,1'-biphenyl]-3-methoxy-4,4',5-triol, **6**)、(2*S*)-2,9-巨豆二羟基-6-烯-1-酮[(2*S*)-2,9-dihydroxy-megastigm-6-en-1-one, **7**]、(2*R*)-2,9-巨豆二羟基-6-烯-1-酮[(2*R*)-2,9-dihydroxy-megastigm-6-en-1-one, **8**]、(5*Z*)-9-羟基-1,5-巨豆二烯-2-酮[(5*Z*)-9-hydroxy-1,5-megastigmadien-2-one, **9**]、2-氧代- α -紫罗兰醇(2-oxo- α -ionol, **10**)、黑麦草内酯(loliolide, **11**)、gardeterpenone A(**12**)。化合物**1**、**2**为新的呔酮类化合物,化合物**3**为新的缩酚酸类化合物,命名为为大苞藤黄甲素、大苞藤黄乙素和大苞藤黄丙素(garbractinones A~C);化合物**7**~**10**为降倍半萜类化合物,化合物**11**~**12**为单萜类化合物,均是首次从大苞藤黄叶中分离得到。CCK-8实验表明,所有化合物(50 μ mol/L)对人非小细胞肺癌A549细胞没有表现明显的抗增殖活性,其抑制率小于50%。

1 仪器与材料

AM-500/600型核磁共振波谱仪(德国Bruker公司); Ultimate 3000半制备型高效液相色谱仪(美

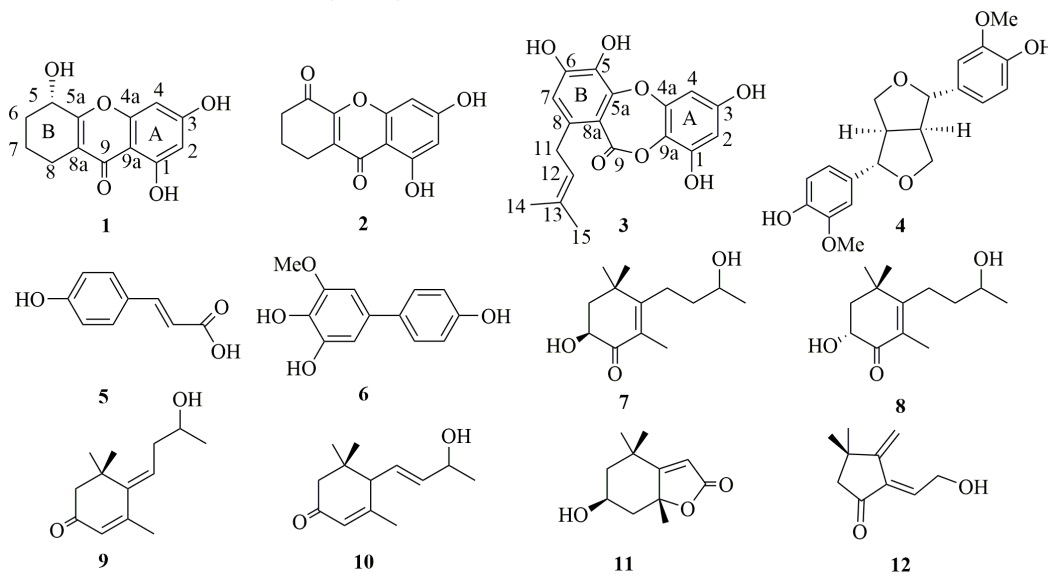


图1 化合物1~12的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—12

国戴安公司, VWD, DAD 检测器); 半制备型色谱柱 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm×10 mm, 5 μm); AX224ZH/E 型电子天平 (奥豪斯仪器常州有限公司); 柱色谱硅胶 (200~300、300~400 目, 青岛海洋化工厂); 石油醚、醋酸乙酯、正丁醇、乙醇、甲醇 (分析纯, 国药集团); 甲醇 (色谱级, Sigma 公司); 乙腈 (色谱级, 中国昌泰兴业有限公司); ZF1-II 紫外分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司); UH5300 紫外可见分光光度计 (日立高新技术公司); Autopo1IV-T 全自动数字旋光仪 (美国鲁道夫公司); Chirascan Plus 圆二色谱仪 (美国应用光物理公司); Q Exactive 高分辨质谱仪 (赛默飞世尔科技有限公司)。高糖培养基 (DMEM, 美国 Gibco 公司); 0.25% 胰酶-EDTA 消化液 (美国 Gibco 公司); 磷酸盐缓冲液 (PBS, 美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (FBS, 杭州四季青生物科技有限公司); 青-链霉素混合液 (双抗, 美国 Gibco 公司); 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO, 北京索莱宝科技有限公司); SP-MAX3500FL 多功能酶标仪 (上海闪谱生物科技有限公司); 紫杉醇 (货号 B21695, 上海源叶生物科技有限公司); 冬凌草甲素 (自制, 质量分数大于 98%)。

大苞藤黄叶于 2021 年 9 月采集于云南省文山州西畴县, 由中南民族大学药学院刘新桥教授鉴定为藤黄科藤黄属植物大苞藤黄 *G. bracteata* C. Y. Wu ex Y. H. Li 的叶, 植物标本 (20210901) 保存于中南民族大学药学院药用植物标本室。

2 方法

2.1 提取与分离

取干燥的大苞藤黄叶 20.0 kg, 粉碎成粗粉, 将粗粉置于 95% 乙醇中浸泡, 室温提取 3 次, 每次 24 h。将浸提液进行减压抽滤, 合并滤液浓缩干燥, 得到乙醇浸膏 2.29 kg。将上述浸膏用 10% 甲醇-水溶解, 再依次用石油醚、醋酸乙酯萃取 3 次, 浓缩、干燥后得到醋酸乙酯提取物 0.43 kg。取醋酸乙酯粗提物 0.3 kg, 用硅胶 (200~300 目) 柱色谱进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1、8:2、7:3、6:4、1:1、3:7、0:1) 为洗脱液进行梯度洗脱, TLC 检测合并所得的组分, 最后得到 13 个组分 (A~M)。将 H 组分 (14.27 g) 用反相硅胶柱色谱进行分离, 用 30%、50%、60%、70%、80%、100% 水-甲醇依次洗脱后, TLC 检测合并所得的组分, 最后得到 10 个组分 (H.01~H.10)。再将其中的 H.02 和 H.03 组

分合并过正相硅胶柱, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:1、6:1、8:2、7:3、6:4、1:1、0:1) 为洗脱液进行梯度洗脱, 得到 19 个组分 (H0203-01~H0203-19)。将组分 H0203-10 通过高效液相色谱 (DAD 检测器, 乙腈-水 24:76) 分离纯化, 得到化合物 **7** (1.23 mg, $t_R=17.1$ min)、**8** (1.12 mg, $t_R=17.8$ min)、**5** (68.36 mg, $t_R=13.5$ min)、**11** (9.15 mg, $t_R=26.4$ min) 和 **6** (4.83 mg, $t_R=28.6$ min)。将组分 H0203-13 通过高效液相色谱 (乙腈-水 27:73) 分离纯化, 得到化合物 **3** (10.18 mg, $t_R=96.1$ min) 和 **4** (10.37 mg, $t_R=29.3$ min)。将组分 H0203-14 通过高效液相色谱 (乙腈-水 25:75) 分离纯化, 得到化合物 **1** (18.9 mg, $t_R=22.9$ min)。将组分 H0203-12 通过高效液相色谱 (乙腈-水 22:78) 分离纯化, 得到化合物 **10** (1.4 mg, $t_R=50.1$ min) 和 **9** (4.18 mg, $t_R=27.5$ min)。将组分 H0203-7 通过高效液相色谱 (乙腈-水 27:73) 分离纯化, 得到化合物 **2** (11.9 mg, 41.2 min) 和 **12** (4.2 mg, $t_R=14.0$ min)。

2.2 抗增殖活性测试

采用 CCK-8 法测定化合物体外抑制 A549 细胞增殖活性^[7]。以化合物 **1**~**12** 为实验组, 紫杉醇和冬凌草甲素为阳性对照组, 同时设对照组 (等体积的不含细胞空白培养基) 和空白组 (等体积的含 10% CCK-8 培养基)。取处于对数生长期的 A549 细胞, 以 5×10^3 个/孔密度接种于 96 孔板培养至细胞贴壁后给药, 每孔加入浓度为 50 μmol/L 的受试化合物 (**1**~**12**) 100 μL 于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中继续培养 48 h, 然后, 吸弃各培养孔上清液, 向每孔加入 100 μL 含 10% CCK-8 工作液的培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 中继续培养 1 h, 用酶标仪测定各孔在 450 nm 处的吸光度 (*A*) 值。重复实验 3 次, 各组分别设定 6 个复孔。根据测得的 *A* 值计算抑制率。

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

3 结果与分析

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定型粉末, $[\alpha]_D^{25} + 27^\circ$ (c 0.05, MeOH), 由 HR-ESI-MS m/z : 249.075 74 $[M+H]^+$ (C₁₃H₁₃O₅⁺, 计算值 249.075 75), 结合 ¹³C-NMR 及 DEPT 135 数据确定该化合物的分子式为 C₁₃H₁₂O₅, 不饱和度为 8。UV 在 250 nm 处有最大吸收, 说明化合物 **1** 含有芳香基团。¹H-NMR 图谱 (表 1) 显示有 1 对苯环间位耦合的芳香质子信号 [δ_H 6.13 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 6.27 (1H, d, $J=2.0$ Hz)] 和 3 组

表1 化合物1和2的¹H-NMR和¹³C-NMR数据
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compounds 1—2

编号	1 (CD ₃ OD)		2 (DMSO- <i>d</i> ₆)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		163.4 (C)		161.6 (C)
2	6.13 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	99.9 (CH)	6.67 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	99.3 (CH)
3		166.1 (C)		165.7 (C)
4	6.27 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	94.9 (CH)	6.83 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	94.1 (CH)
4a		159.6 (C)		156.7 (C)
5	4.52 (1H, t, <i>J</i> = 5.0 Hz)	66.3 (CH)		192.4 (C)
6	1.91 (2H, m)	32.4 (CH ₂)	3.12 (2H, m)	38.2 (CH ₂)
7	1.73 (1H, m), 1.83 (1H, m)	18.6 (CH ₂)	3.12 (2H, m)	20.9 (CH ₂)
8	2.50 (1H, dt, <i>J</i> = 17.0, 5.5 Hz), 2.32 (1H, m)	21.8 (CH ₂)	2.96 (2H, m)	20.2 (CH ₂)
8a		118.5 (C)		128.5 (C)
9		183.5 (C)		182.1 (C)
9a		105.3 (C)		104.6 (C)
5a		164.6 (C)		150.5 (C)
1-OH			12.90 (1H, s)	

亚甲基氢信号 [δ_{H} 2.50 (1H, dt, *J* = 17.0, 5.5 Hz), 2.32 (1H, m); δ_{H} 1.91 (2H, m); 1.83 (1H, m), 1.73 (1H, m)]。由¹³C-NMR和DEPT 135谱显示有1个共轭的羰基碳信号 δ_{C} 183.5 (s)、6个季碳信号 [δ_{C} 166.1 (s), 164.6 (s), 163.4 (s), 159.6 (s), 118.5 (s), 105.3 (s)]、3个亚甲基信号 [δ_{C} 32.4 (t), 21.8 (t), 18.6 (t)]、3个次甲基信号 [δ_{C} 99.9 (d), 94.9 (d), 66.3 (d)]。综合以上数据,推测该化合物属于四氢吡酮类化合物^[18]。在HMBC图谱中, H-2 (δ_{H} 6.13) 与 δ_{C} 94.9 (C-4), 105.3 (C-9a), 163.4 (C-1), 166.1 (C-3) 相关, H-4 (δ_{H} 6.27) 与 δ_{C} 105.3 (C-9a), 159.6 (C-4a), 166.1 (C-3), 99.9 (C-2) 相关, 说明A环上的2个羟基连接在C-1和C-3位。由¹H-¹H COSY和HSQC推出有-CH₂CH₂CH₂CH(O)-, HMBC图谱(图2)中H-5 (δ_{H} 4.52) 与 δ_{C} 164.6 (C-5a) 相关, H-8 (δ_{H} 2.50) 与 δ_{C} 118.5 (C-8a), 183.5 (C-9), δ_{C} 164.6 (C-5a) 相关, 说明该结构片段通过C-5和C-5a相连, C-8和C-8a相连, 形成化合物1a。

考虑到间隔4个化学键的HMBC的存在, 结构片段也可以通过C-5和C-8a相连、C-8和C-5a相连, 形成化合物1b。为了进一步确定1的平面结构, 本实验对化合物1a和1b进行了NMR计算, 结果表明(图3), 化合物1a的NMR计算的碳谱校正最大绝对偏差(CLAD)、校正平均绝对偏差(CMAD)、线性相关系数(*R*²)和均方根偏差(RMSD)均比1b小, 基于¹H-NMR、¹³C-NMR计算数据的DP4⁺分析表明1a的可能性接近100%, 因而确定化合物1的平面结构为1,3,5-三羟基-5,6,7,8-四氢吡酮。为确定化合物1的绝对构型, 在B3LYP/6-311G(d,p)理论水平下, 采用含时-密度泛函(TD-DFT)方法, 对化合物1一对可能的对映异构体(5*R*)-1a和(5*S*)-1a'进行ECD的计算。结果表明(图4), 1a'的计算ECD曲线与实验ECD曲线相符, 因而, 确定化合物1的绝对构型为5*S*。

化合物2: 黄色粉末, 由HR-ESI-MS *m/z*:

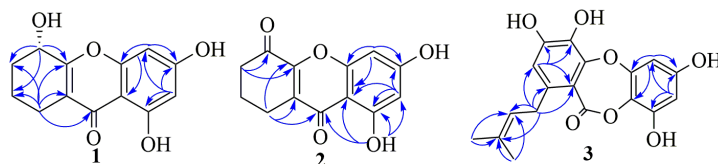
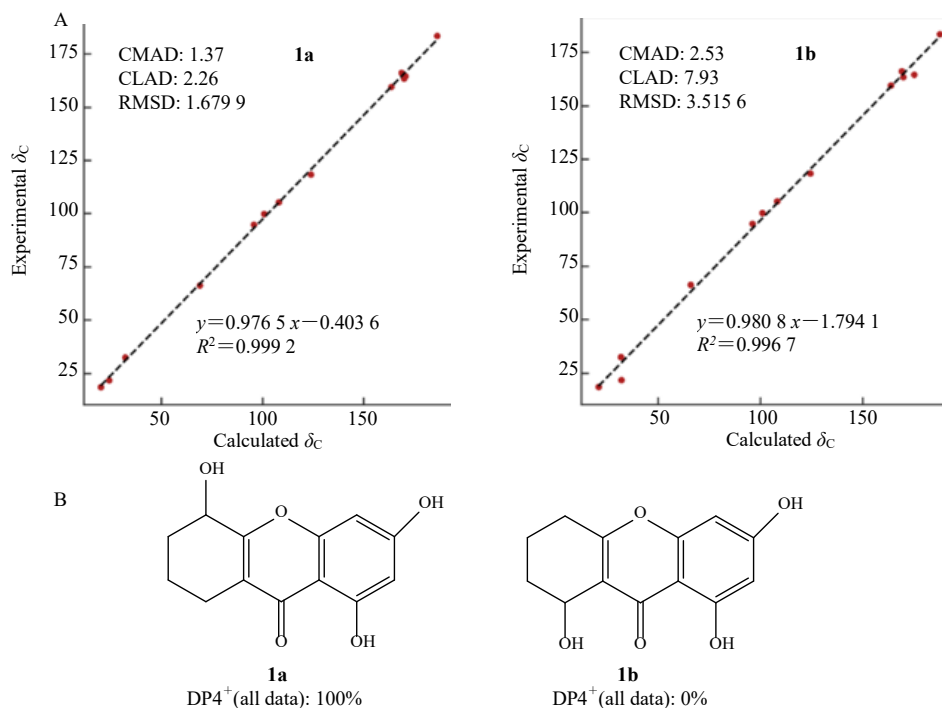


图2 化合物1~3的HMBC图谱

Fig. 2 HMBC correlations of compounds 1—3



A-化合物 **1a** 和 **1b** 的计算 ¹³C-NMR 化学位移与实验值的线性回归拟合图; B-基于化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 化学位移的 DP4⁺ 概率分析。
 A-linear regression fitting of computed ¹³C-NMR chemical shifts and experimental values of compounds **1a**—**1b**; B-DP4⁺ probabilities based on the ¹H-NMR and ¹³C-NMR chemical shifts of compound **1**.

图 3 化合物 **1** 两种可能结构的 NMR 计算结果

Fig. 3 NMR calculation results of two possible structures for compound **1**

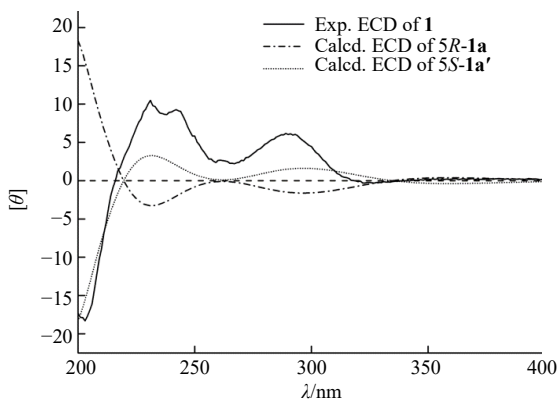


图 4 化合物 **1** 的实验 ECD 和计算 ECD 图谱

Fig. 4 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

247.060 12 [M+H]⁺(C₁₃H₁₁O₅⁺, 计算值 247.061 01), 结合 ¹³C-NMR 及 DEPT 135 数据确定该化合物的分子式为 C₁₃H₁₀O₅, 不饱和度为 9。同化合物 **1** 相比, 多 1 个饱和度, 比较 2 个化合物的 NMR 数据, 发现化合物 **2** 比化合物 **1** 多 1 个共轭羰基的信号 δ_C 192.4(s), 而少 1 个连氧次甲基的信号, 说明化合物 **2** 为化合物 **1** 的 5-OH 氧化成羰基, HMBC 图谱中 H-6 (δ_H 3.12) 与 δ_C 150.5 (C-5a), 192.4 (C-5) 相关,

H-8 (δ_H 2.96) 与 δ_C 128.5 (C-8a), 182.1 (C-9), δ_C 150.5 (C-5a) 相关证实了上述推断, 因而, 化合物 **2** 的结构鉴定为 1,3-二羟基-5-羰基-5,6,7,8-四氢吡酮。

化合物 **3**: 橙黄色无定型粉末, 由 HR-ESI-MS *m/z*: 345.096 86 [M+H]⁺ (C₁₈H₁₇O₇⁺, 计算值 345.096 88), 结合 ¹³C-NMR 及 DEPT 数据确定该化合物的分子式为 C₁₈H₁₆O₇, 不饱和度为 11。¹H-NMR 图谱 (表 2) 显示有 1 对苯环间位偶合的芳香质子信号 [δ_H 6.18 (1H, d, *J* = 3.0 Hz), 6.40 (1H, d, *J* = 3.0 Hz)], 1 个孤立的芳香质子信号 δ_H 6.57 (1H, s), 2 个单峰甲基信号 [δ_H 1.70 (3H, s); 1.66 (3H, s)], 1 个亚甲基信号 [δ_H 3.40 (2H, d, *J* = 7.0 Hz)], 1 个双键质子信号 [δ_H 5.19 (1H, t, *J* = 7.5 Hz)]。由 ¹³C-NMR 和 DEPT-135 图谱可知存在 1 个共轭酯羰基 [δ_C 166.5 (s)], 1 个异戊烯基 [δ_C 32.7 (t), 124.5 (d), 134.0 (s), 18.1 (q), 26.1 (q)], 3 个 sp² 杂化的次甲基 [δ_C 102.0 (d), 100.5 (d), 115.2 (d)], 9 个非质子化的碳 [150.2 (s), 156.5 (s), 154.6 (s), 151.4 (s), 135.4 (s), 151.7 (s), 138.2 (s), 113.5 (s), 127.8 (s)], 综合以上数据, 推测该化合物结构类型为缩酚酸环醚, 带有 4 个羟基和 1 个异戊烯基^[19]。A 环的羟基取代的模式

表2 化合物3的¹H-NMR和¹³C-NMR数据(500/125 MHz, CD₃OD)Table 2 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound 3 (500/125 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		150.2 (C)
2	6.18 (1H, d, $J = 3.0$ Hz)	102.0 (CH)
3		156.5 (C)
4	6.40 (1H, d, $J = 3.0$ Hz)	100.5 (CH)
4a		154.6 (C)
5		135.4 (C)
6		151.7 (C)
7	6.57 (1H, s)	115.2 (CH)
8		138.2 (C)
8a		113.5 (C)
9		166.5 (C)
9a		127.8 (C)
5a		151.4 (C)
11	3.40 (2H, d, $J = 7.0$ Hz)	32.7 (CH ₂)
12	5.19 (1H, t, $J = 7.5$ Hz)	124.5 (CH)
13		134.0 (C)
14	1.66 (3H, s)	18.1 (CH ₃)
15	1.70 (3H, s)	26.1 (CH ₃)

同化合物1一致, HMBC证实了上述推断。HMBC图谱中H-7(δ_{H} 6.57)与 δ_{C} 151.7 (C-6), 135.4 (C-5), 113.5 (C-8a)相关, H₂-11(δ_{H} 3.40)与 δ_{C} 113.5 (C-8a), 115.2 (C-7), 138.2 (C-8)相关, 说明剩余的2个羟基分别连在C-5和C-6位, 异戊烯基连在C-8。综上所述, 鉴定化合物3的结构为1,3,5,6-四羟基-8-异戊烯基缩酚酸环醚。

化合物4: 白色粉末, 分子式为C₂₀H₂₂O₆。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.94 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2, 2'), 6.76 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5, 5'), 6.80 (2H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-6, 6'), 4.69 (2H, d, $J = 4.5$ Hz, H-7, 7'), 3.13 (2H, m, H-8, 8'), 4.22 (2H, dd, $J = 9.0, 7.0$ Hz, H-9a, 9'a), 3.82 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.84 (6H, s, 3, 3'-OMe); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 134.0 (C-1, 1'), 111.1 (C-2, 2'), 149.3 (C-3, 3'), 147.5 (C-4, 4'), 116.3 (C-5, 5'), 120.3 (C-6, 6'), 87.2 (C-7, 7'), 55.6 (C-8, 8'), 72.8 (C-9, 9'), 56.6 (3', 3'-OMe), 以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物4为松脂醇。

化合物5: 白色粉末, 分子式为C₉H₈O₃。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.28 (1H, d, $J = 16.0$ Hz,

H-2), 7.60 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-3), 7.45 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.81 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 171.3 (C-1), 115.7 (C-2), 146.8 (C-3), 127.3 (C-1'), 131.2 (C-2'), 116.9 (C-3'), 161.2 (C-4'), 116.9 (C-5'), 131.2 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物5为对羟基苯丙烯酸。

化合物6: 黄色粉末, 分子式为C₁₃H₁₂O₄。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.63 (1H, s, H-2, 6), 7.34 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.79 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 134.0 (C-1), 103.3 (C-2), 150.1 (C-3), 134.5 (C-4), 147.0 (C-5), 108.4 (C-6), 134.5 (C-1'), 128.8 (C-2'), 116.6 (C-3'), 157.7 (C-4'), 116.6 (C-5'), 128.8 (C-6'), 56.9 (3-OMe), 以上数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物6为3-甲氧基-4,4',5-三羟基联苯。

化合物7: 白色固体, 分子式C₁₃H₂₂O₃。[α]_D²⁴-36 (c 0.05, MeOH), ECD (2.02×10^{-3} M, MeOH) λ (θ) 210 (+4.76), 250 (-9.72), 311 (+1.06) nm; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 4.28 (1H, dd, $J = 14.0, 5.5$ Hz, H-2), 2.03 (1H, dd, $J = 12.5, 5.5$ Hz, H-3a), 1.74 (1H, t, $J = 13.5$ Hz, H-3b), 2.30 (1H, m, H-7a), 2.40 (1H, m, H-7b), 1.56 (2H, m, H-8), 3.79 (1H, m, H-9), 1.21 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, CH₃-10), 1.28 (3H, s, CH₃-11), 1.22 (3H, s, CH₃-12), 1.80 (3H, s, CH₃-13); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 201.6 (C-1), 70.6 (C-2), 47.2 (C-3), 39.0 (C-4), 167.1 (C-5), 129.9 (C-6), 28.2 (C-7), 39.1 (C-8), 69.1 (C-9), 23.4 (C-10), 25.9 (C-11), 30.2 (C-12), 12.1 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[23], 结合CD图谱, 鉴定化合物7为(2*S*)-2,9-巨豆二羟基-6-烯-1-酮。

化合物8: 白色固体, 分子式C₁₃H₂₂O₃。[α]_D²⁴+28° (c 0.05, MeOH)。ECD (2.02×10^{-3} M, MeOH) λ (θ) 210 (-4.85), 250 (+9.00), 320 (-9.22) nm; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 4.28 (1H, dd, $J = 14.0, 5.5$ Hz, H-2), 2.20 (1H, dd, $J = 12.5, 5.5$ Hz, H-3a), 1.75 (1H, t, $J = 13.0$ Hz, H-3b), 2.51 (1H, m, H-7a), 2.19 (1H, m, H-7b), 1.56 (2H, m, H-8), 3.79 (1H, m, H-9), 1.20 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH₃-10), 1.28 (3H, s, CH₃-11), 1.21 (3H, s, CH₃-12), 1.80 (3H, s, CH₃-13); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 201.6 (C-1), 70.6 (C-2), 47.2 (C-3), 39.0 (C-4), 167.1 (C-5), 129.9 (C-6), 28.2 (C-7), 39.1 (C-8), 69.0 (C-9), 23.5 (C-10), 26.0 (C-11), 30.1 (C-12), 12.1 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[23], 结

合 CD 图谱, 故鉴定化合物 **8** 为 (2R)-2,9-巨豆二羟基-6-烯-1-酮。

化合物 **9**: 黄色无定型粉末, 分子式为 $C_{13}H_{20}O_2$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.89 (1H, s, H-1), 2.35 (2H, s, H-3), 6.23 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-7), 2.61 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-8), 3.89 (1H, m, H-9), 1.23 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, CH_3 -10), 1.31 (3H, s, CH_3 -11), 1.30 (3H, s, CH_3 -12), 2.12 (3H, d, $J = 1.0$ Hz, CH_3 -13); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 134.8 (C-1), 202.3 (C-2), 54.8 (C-3), 39.5 (C-4), 158.9 (C-5), 143.9 (C-6), 125.9 (C-7), 40.6 (C-8), 68.8 (C-9), 23.6 (C-10), 29.5 (C-11), 29.5 (C-12), 22.8 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 **9** 为 (5Z)-9-羟基-1,5-巨豆二烯-2-酮。

化合物 **10**: 黄色固体, 分子式为 $C_{13}H_{20}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.88 (1H, brs, H-1), 2.42 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-3a), 2.05 (2H, d, $J = 16.8$ Hz, H-3b), 2.66 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-5), 5.58 (1H, ddd, $J = 15.6, 9.0, 1.2$ Hz, H-7), 5.68 (1H, dd, $J = 15.0, 6.0$ Hz, H-8), 4.28 (1H, m, H-9), 1.24 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, CH_3 -10), 0.98 (3H, s, CH_3 -11), 1.03 (3H, s, CH_3 -12), 1.96 (3H, d, $J = 1.8$ Hz, CH_3 -13); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 126.3 (C-1), 202.3 (C-2), 48.5 (C-3), 37.3 (C-4), 56.9 (C-5), 166.3 (C-6), 127.6 (C-7), 140.4 (C-8), 69.0 (C-9), 24.0 (C-10), 28.2 (C-11), 27.6 (C-12), 24.0 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[25], 故鉴定化合物 **10** 为 2-氧代- α -紫罗兰醇。

化合物 **11**: 淡黄色粉末, 分子式为 $C_{11}H_{16}O_3$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.41 (1H, td, $J = 2.5, 13.5$ Hz, H-1a), 1.72 (1H, dd, $J = 4.0, 13.5$ Hz, H-1b), 4.21 (1H, m, H-2), 1.98 (1H, td, $J = 2.5, 14.5$ Hz, H-3a), 1.52 (1H, dd, $J = 4.0, 14.5$ Hz, H-3b), 5.74 (1H, s, H-7), 1.46 (3H, s, CH_3 -9), 1.27 (3H, s, CH_3 -10), 1.75 (3H, s, CH_3 -11); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 46.6 (C-1), 67.4 (C-2), 48.2 (C-3), 37.4 (C-4), 185.9 (C-5), 89.2 (C-6), 113.5 (C-7), 174.6 (C-8), 27.1 (C-9), 31.2 (C-10), 27.6 (C-11)。以上数据与文献报道基本一致^[26], 故鉴定化合物 **11** 为黑麦草内酯。

化合物 **12**: 黄色无定型粉末, 分子式为 $C_{10}H_{14}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.39 (2H, s, H-5), 6.21 (1H, s, H-6), 4.44 (2H, d, $J = 1.2$ Hz, H-7), 5.43 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-8a), 5.46 (1H, s, H-8b), 1.21 (6H, s, CH_3 -9, 10); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD)

δ : 202.1 (C-1), 159.0 (C-2), 150.4 (C-3), 40.1 (C-4), 53.2 (C-5), 124.0 (C-6), 62.1 (C-7), 114.1 (C-8), 28.7 (C-9, 10)。以上数据与文献报道基本一致^[27], 故鉴定化合物 **12** 为 gardeterpenone A。

3.2 抗增殖活性测试结果

采用 CCK-8 方法, 以冬凌草甲素和紫杉醇为阳性药, 测试所有分离的化合物对 A549 细胞体外抗增殖的活性, 结果表明, 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 下, 所有化合物对 A549 细胞没有表现出明显的抗增殖活性, 其抑制率小于 50%, 而阳性药冬凌草甲素 (50 $\mu\text{mol/L}$) 和紫杉醇 (10 $\mu\text{mol/L}$) 的抑制率分别为 97.83% 和 74.77%。

4 讨论

本研究从大苞藤黄叶醋酸乙酯提取物中分离得到了 12 个化合物, 其结构类型涉及到酚类 (**1~6**) 和萜类化合物 (**7~12**)。酚类化合物包括 2 个新的四氢吡酮和 1 个缩酚酸环醚类化合物, 为首次从该植物中发现的新结构类型, 萜类化合物包括降倍半萜类和单萜, 均是首次从该植物中分离得到, 这些发现丰富了大苞藤黄化学成分的结构类型。尽管本研究在进行抗增殖活性的筛选中, 并没有发现所分离的化合物具有明显的抗增殖活性, 结合前期文献报道^[5], 大苞藤黄叶发挥抗肿瘤活性的物质基础可能是吡酮 (包括异戊烯基和笼状吡酮), 但这些化合物在抗炎和降血糖方面的生物活性值得进一步挖掘。研究成果为深入研究大苞藤黄叶的药效物质基础奠定了基础, 也为这一药用植物资源的合理开发及可持续利用提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Liu B, Zhang X B, Bussmann R W, et al. *Garcinia* in southern China: Ethnobotany, management, and niche modeling [J]. *Econ Bot*, 2016, 70(4): 416-430.
- [2] Hu Q F, Niu D Y, Wang S J, et al. New flavones from *Garcinia bracteata* and their biological activities [J]. *Chem Nat Compd*, 2014, 50(6): 985-988.
- [3] Thoison O, Cuong D D, Gramain A, et al. Further rearranged prenylxanthenes and benzophenones from *Garcinia bracteata* [J]. *Tetrahedron*, 2005, 61(35): 8529-8535.
- [4] Thoison O, Fahy J, Dumontet V, et al. Cytotoxic prenylxanthenes from *Garcinia bracteata* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(4): 441-446.
- [5] Zhang B J, Fu W W, Wu R, et al. Bioactive scalemic caged

- xanthenes from the leaves of *Garcinia bracteata* [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 82: 274-283.
- [6] Zhang B J, Fu W W, Wu R, *et al.* Cytotoxic prenylated xanthenes from the leaves of *Garcinia bracteata* [J]. *Planta Med*, 2019, 85(6): 444-452.
- [7] Niu S L, Li D H, Li X Y, *et al.* Bioassay- and chemistry-guided isolation of scalemic caged prenylxanthenes from the leaves of *Garcinia bracteata* [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(4): 749-757.
- [8] Na Z, Hu H B, Fan Q F. A novel caged-prenylxanthone from *Garcinia bracteata* [J]. *Chin Chem Lett*, 2010, 21(4): 443-445.
- [9] Shen T, Li W, Wang Y Y, *et al.* Antiproliferative activities of *Garcinia bracteata* extract and its active ingredient, isobractatin, against human tumor cell lines [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(3): 412-420.
- [10] Hu Q F, Ning P, Li L M, *et al.* Isoprenylated flavones from *Garcinia bracteata* and their anti-tobacco mosaic virus activity [J]. *Heterocycles*, 2015, 91(2): 375.
- [11] Xue Q, Chen Y, Yin H J, *et al.* Prenylated xanthenes and benzophenones from the fruits of *Garcinia bracteata* and their potential antiproliferative and anti-inflammatory activities [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 104: 104339.
- [12] Na Z, Hu H B, Xu Y K. Cytotoxic caged xanthenes from the fruits of *Garcinia bracteata* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(3): 505-506.
- [13] Li Q Q, Yang S, Teng H D, *et al.* Structural elucidation of two intricate polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols using quantum chemical calculations and their hypoglycemic activities [J]. *Arab J Chem*, 2022, 15(10): 104137.
- [14] Chen Y, Xue Q, Teng H D, *et al.* Acylphloroglucinol derivatives with a tricyclo-[4.4.1.1^{1,4}]dodecane skeleton from *Garcinia bracteata* fruits [J]. *J Org Chem*, 2020, 85(10): 6620-6625.
- [15] Li X N, Xu J, Yang S, *et al.* Garbractin A, a polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol with a 4,11-dioxatricyclo[4.4.2.0^{1,5}]dodecane skeleton from *Garcinia bracteata* fruits [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(33): 30747-30756.
- [16] Li X N, Li Q Q, Xu J, *et al.* Isolation and antihyperglycemic effects of garcibractinols A-H, intricate polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols from the fruits of *Garcinia bracteata* [J]. *Bioorg Chem*, 2023, 138: 106651.
- [17] 柴玲, 陈明生, 卢文杰, 等. 互叶白千层化学成分及其抗肿瘤活性研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(3): 581-587.
- [18] Wang Q H, Bao B, Chen Y L. Structure elucidation and NMR assignments of two unusual xanthenes from *Lomatogonium carinthiacum* (Wulf) Reichb [J]. *Magn Reson Chem*, 2014, 52(1/2): 37-39.
- [19] Li Y F, Zhao P, Chen Y, *et al.* Depsidone and xanthenes from *Garcinia xanthochymus* with hypoglycemic activity and the mechanism of promoting glucose uptake in L6 myotubes [J]. *Bioorg Med Chem*, 2017, 25(24): 6605-6613.
- [20] Sono M, Yamaguchi H, Nakashima K, *et al.* A new diterpenoid and a lignan from *Pinus thunbergii* [J]. *Nat Prod Commun*, 2017, 12(8): 1181-1184.
- [21] 阎圣刚, 宁思阳, 李刚月, 等. 对羟基苯丙烯酸的改进合成 [J]. *大连海事大学学报*, 2008, 34(4): 84-86.
- [22] Ji B K, Gao X M, Cui D, *et al.* Two new biphenyls from the stems of *Garcinia tetralata* [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(13): 1544-1550.
- [23] DellaGreca M, Fiorentino A, Izzo A, *et al.* Phytotoxicity of secondary metabolites from *Aptenia cordifolia* [J]. *Chem Biodivers*, 2007, 4(2): 118-128.
- [24] D'Abrosca B, DellaGreca M, Fiorentino A, *et al.* Structure elucidation and phytotoxicity of C13 nor-isoprenoids from *Cestrum parqui* [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(4): 497-505.
- [25] Pabst A, Barron D, Sémon E, *et al.* Two diastereomeric 3-oxo- α -ionol β -D-glucosides from raspberry fruit [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(5): 1649-1652.
- [26] Okada N, Shirata K, Niwano M, *et al.* Immunosuppressive activity of a monoterpene from *Eucommia ulmoides* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(1): 281-282.
- [27] Yu, S F, Huang, X J, Fu, S N, *et al.* New monoterpenoids from fruits of *Gardenia jasminoides* var. *radicans* [J]. *Helv Chim Acta*, 2015, 98 (9): 1267-1272.

[责任编辑 王文倩]