

## 北栽秧花中一个新的间苯三酚类化合物

马永慧<sup>1,2</sup>, 孙浩然<sup>2</sup>, 李进<sup>1\*</sup>, 吉腾飞<sup>2,3\*</sup>

(1. 新疆师范大学生命科学学院, 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 干旱区植物逆境生物学实验室, 新疆乌鲁木齐 830054; 2. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050; 3. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海省藏药研究重点实验室, 藏药研究重点实验室, 青海 西宁 810001)

**摘要:** 采用MCI柱色谱、硅胶柱色谱、制备高效液相色谱等对北栽秧花 (*Hypericum pseudohenryi* N. Robson) 95%乙醇提取物中间苯三酚类成分进行分离纯化, 从中分离得到8个多环多异戊烯基酰基化间苯三酚化合物, 分别鉴定为 hypseudohenrin L (1)、hyperbeanin P (2)、furohyperforin (3)、furoadhyperforin (4)、ascyronone F (5)、attenuatumione E (6)、hyphenrone T (7) 和 hyperforatone N (8), 其中化合物1为新闻间苯三酚类成分。利用MTT法探究8个化合物对脂多糖(LPS)诱导的原代小鼠腹腔巨噬细胞一氧化氮(NO)生成的影响, 结果表明, 化合物1、3、5和7对LPS诱导巨噬细胞NO生成具有显著的抑制作用, 说明其具有潜在的抗炎活性。

**关键词:** 北栽秧花; 间苯三酚; 一氧化氮; 抗炎活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)12-3596-07

## A new polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol from *Hypericum pseudohenryi*

MA Yong-hui<sup>1,2</sup>, SUN Hao-ran<sup>2</sup>, LI Jin<sup>1\*</sup>, JI Teng-fei<sup>2,3\*</sup>

(1. Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology, Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, College of Life Science, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China; 2. State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 3. Qinghai Provincial Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

**Abstract:** Eight polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols (PPAPs) were isolated from the 95% ethanol extract of *Hypericum pseudohenryi* by MCI column, silica gel column and preparative HPLC. These compounds were defined as hypseudohenrin L (1), hyperbeanin P (2), furohyperforin (3), furoadhyperforin (4), ascyronone F (5), attenuatumione E (6), hyphenrone T (7) and hyperforatone N (8), compound 1 is a new compound. Compounds 1, 3, 5, 7 showed an inhibitory effect on lipopolysaccharide (LPS)-induced nitric oxide (NO) production in macrophage cells.

**Key words:** *Hypericum pseudohenryi*; polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol; nitric oxide; anti-inflammatory activity

收稿日期: 2022-05-27; 修回日期: 2022-06-10.

基金项目: 新疆维吾尔自治区高校科研计划项目 (XJEDU2019I022); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2021-I2M-1-028); 北京高校卓越青年科学家计划项目 (BJJWZYJH01201910023028); 青海省重点研发与转化计划-国际合作专项 (2020-HZ-803).

\*通讯作者 Tel: 86-991-4332325, E-mail: xjcjlj4@xjnu.edu.cn;

Tel: 86-10-63165226, E-mail: jitf@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0654

北栽秧花 (*Hypericum pseudohenryi* N. Robson) 为藤黄科 (Guttiferae) 金丝桃属植物, 该属植物在全球约有 400 种, 其主要特征性成分为多环多异戊烯基取代酰基间苯三酚类化合物 (polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols, PPAPs)<sup>[1]</sup>, 是一类具有异戊烯基、香叶烯基及酰基侧链取代, 高度氧化环合结构特点的化合物。金丝桃属代表性植物贯叶金丝桃已有 2 400 余年的药用历史<sup>[2]</sup>, 北栽秧花用于治疗急慢性黄疸型肝炎、尿道感染、结石、风湿疼痛、跌打损伤<sup>[3]</sup>等。现代药理学研究表明, 金丝桃属植物具有抗炎、抗肿瘤及抗神经退行性疾病等活性, 而炎症为疾病基本病理过程, 与多种疾病的进程及转归相关, 因此对天然药物的抗炎药效物质基础进行研究, 发现先导化合物是切实可行的。近年发现一系列抗炎活性良好的天然产物, 包括黄酮类化合物桑色素<sup>[4]</sup>、倍半萜<sup>[5]</sup>、西松烷型二萜<sup>[6]</sup>和多糖<sup>[7]</sup>等。

本研究在已有间苯三酚类成分的工作基础上<sup>[8]</sup>, 开展了北栽秧花间苯三酚类成分的研究。分得 8 个间苯三酚类化合物, 化合物 **1** 为新化合物。结合其民间用于治疗尿路感染、风湿疼痛等炎症相关疾病, 以一氧化氮 (NO) 释放抑制作用为切入点, 筛选北栽秧花中抗炎活性成分, 采用 MTT 法探究 8 个化合物对脂多糖 (LPS) 诱导的原代小鼠腹腔巨噬细胞 NO 生成的影响, 结果表明, 化合物 **1**、**3**、**5** 和 **7** 对 LPS 诱导巨噬细胞 NO 生成显著的抑制作用, 说明其具有潜在的抗炎活性。

## 结果与讨论

### 1 结构鉴定

化合物 **1** 无色油状物,  $[\alpha]_D^{20} +22.4$  ( $c$  0.71, MeOH)。由高分辨质谱数据可知其分子式为  $C_{35}H_{52}O_6$  ( $m/z$  569.383 0  $[M+H]^+$ , 计算值 569.383 7), 不饱和度为 10。在  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ) 图谱中, 未观察到苯环上的氢信号, 但存在一个次甲基和两个明显的双峰甲基信号, 且偶合常数相同 ( $\delta_H$  0.97, 3H, d,  $J = 6.5$  Hz; 1.08, 3H, d,  $J = 6.5$  Hz; 2.69, 1H, sept,  $J = 6.5$  Hz), 提示该化合物中可能存在异丁酰基, 高场区显示 9 个单峰甲基信号  $\delta_H$  1.73 (3H, s)、1.70 (3H, s)、1.70 (3H, s)、1.66 (3H, s)、1.60 (3H, s)、1.57 (3H, s)、1.37 (3H, s)、1.30 (3H, s)、1.05 (3H, s) 和 3 个烯氢信号  $\delta_H$  5.36 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz)、5.07 (1H, t,  $J = 6.5$  Hz)、4.99 (1H, t,  $J = 7.0$  Hz)。结合  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ), 该化合物共有 35 个碳信号, 可见 3 个非共轭的羰基信号 ( $\delta_C$  209.3、206.6、203.1) 和 1 个双连氧的碳信号 ( $\delta_C$  111.1), 上述信号包含 6 个不饱和度, 因此, 化合物 **1** 中存在 4 个环系。

在 HMBC 谱中, H-14 ( $\delta_H$  2.61) 与 3 个季碳相关

(C-2,  $\delta_C$  203.1; C-3,  $\delta_C$  77.7; C-4,  $\delta_C$  111.1), H-24 ( $\delta_H$  2.12) 与 C-6 ( $\delta_C$  37.2)、C-7 ( $\delta_C$  46.0)、C-8 ( $\delta_C$  54.1)、 $CH_3$ -29 ( $\delta_C$  13.9) 相关, H-30 ( $\delta_H$  2.05) 与 C-8、C-1 ( $\delta_C$  84.8) 相关, 明确了 3 个异戊烯基与母核的连接位置, 且  $CH_3$ -29 不与 C-3 相关, 故化合物 **1** 应为 Type A 双环多异戊烯基取代的酰基间苯三酚型 (bicycle polyprenylated acylphloroglucinols, BPAPs) 化合物。H-19 ( $\delta_H$  1.48) 与 C-4 ( $\delta_C$  111.1)、C-5 ( $\delta_C$  61.6) 相关, 而 C-4 又为双连氧碳, 提示  $C_4$ - $C_5$  位置可能稠合了四氢呋喃环。偕二甲基 (H-22,  $\delta_H$  1.30; H-23, 1.37) 与两个连氧碳 (C-20,  $\delta_C$  82.0; C-21,  $\delta_C$  84.3) 相关, 确定了四氢呋喃环以及 2-羟基丙基的存在。C-4 位在形成一个四氢呋喃环之外, 另一个氧原子也需要成环, 因此在  $C_3$ - $C_4$  之间存在一个环氧结构。化合物 **1** 的平面结构如图 1 所示, 其波谱数据归属见表 1。

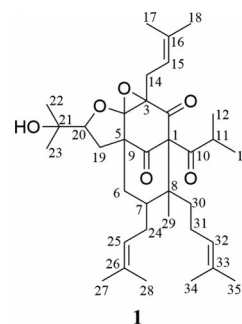


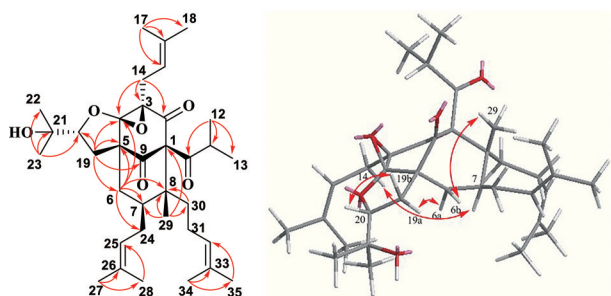
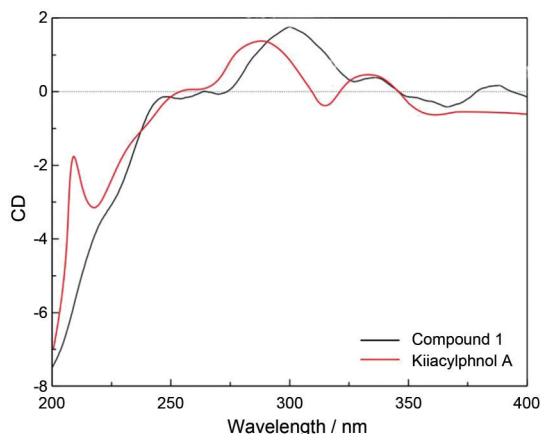
Figure 1 The structure of compound **1**

化合物 **1** 的相对构型由 ROESY 实验确定。H-20 ( $\delta_H$  4.29, d,  $J = 5.5$  Hz) 仅有一个偶合常数, 表明在具有四氢呋喃环的 BPAP 结构中该氢原子处于  $\beta$ -取向, 因为其与 H-19 $\alpha$  ( $\delta_H$  1.48, d,  $J = 13.0$  Hz) 的二面角几乎为 90 度, 根据 Karplus 规则<sup>[9]</sup>可知, 此时两个氢的偶合常数几乎等于零; 若是 H-20 处于  $\alpha$ -取向, 则其峰形为 dd 峰。C-7 的化学位移为 46.0, 且 H-6 $\alpha$  ( $\delta_H$  2.54) 与 H-6 $\beta$  ( $\delta_H$  1.57) 的化学位移差值为 0.97, 故 C-7 处的异戊烯基处于  $\beta$ -取向。在 ROESY 谱中, 可以观察到  $CH_3$ -29 ( $\delta_H$  1.05) 与 H-6 $\beta$  的相关信号, 故  $CH_3$ -29 也处于  $\beta$ -取向; 同时可以观察到  $CH_2$ -14 ( $\delta_H$  2.61) 与 H-7 ( $\delta_H$  1.34) 的相关信号, 确定 3, 4 位环氧处于  $\beta$ -取向; 因此化合物 **1** 的相对构型确定如图 2 所示。

化合物 **1** 的绝对构型是根据其 ECD 图谱与化合物 kiiacylphnol A<sup>[10]</sup> 的相关数据进行对比确定的 (图 3)。化合物 **1** 平面结构与化合物 kiiacylphnol A 类似, 区别在于化合物 **1** 的 C-4, 5 联合的是四氢呋喃环; 而化合物 kiiacylphnol A 则是四氢吡喃环, 二者的母核与相对构型也一致。化合物 **1** 的实验 ECD 图谱曲线趋势与化合

**Table 1**  $^1\text{H}$  (500 MHz in  $\text{CDCl}_3$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz in  $\text{CDCl}_3$ ) data for compound **1**

No.	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult	No.	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ , mult
1	84.8	–	18	25.9	1.70, s
2	203.1	–	19	31.1	1.48, d, $J = 13.0$ Hz 2.97, dd, $J = 13.0, 5.5$ Hz
3	77.7	–	20	82.0	4.29, d, $J = 5.5$ Hz
4	111.1	–	21	84.3	–
5	61.6	–	22	28.0	1.30, s
6	37.2	1.57, t, $J = 14.0$ Hz 2.54, dd, $J = 14.0, 4.0$ Hz	23	21.9	1.37, s
7	46.0	1.34, m	24	27.9	1.68, m 2.12, m
8	54.1	–	25	122.5	4.99, t, $J = 7.0$ Hz
9	206.6	–	26	133.4	–
10	209.3	–	27	18.3	1.70, s
11	41.2	2.69, sept, $J = 6.5$ Hz	28	18.2	1.57, s
12	21.7	0.97, d, $J = 6.5$ Hz	29	13.9	1.05, s
13	20.3	1.08, d, $J = 6.5$ Hz	30	37.0	1.16, m 2.05, m
14	31.9	2.61, dd, $J = 14.0, 7.5$ Hz 2.91, dd, $J = 14.0, 7.5$ Hz	31	25.6	1.88, m 2.16, m
15	118.2	5.36, t, $J = 7.5$ Hz	32	124.7	5.07, t, $J = 6.5$ Hz
16	136.4	–	33	131.5	–
17	26.4	1.73, s	34	25.9	1.66, s
			35	17.9	1.60, s

**Figure 2** Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HMBC and ROESY correlations of compound **1****Figure 3** The experimental ECD of compound **1**

物 kiiacylphnol A 实验和计算 ECD 图谱曲线趋势一致, 确定其绝对构型为 1*S*, 3*S*, 4*R*, 5*R*, 7*S*, 8*R*, 23*R*, 将化合物 **1** 命名为 hypseudohenrin L。

## 2 化合物活性测试

利用 MTT 法对 8 个间苯三酚类化合物进行细菌 LPS 诱导原代小鼠腹腔巨噬细胞产生 NO 生成的影响, 并以地塞米松 (Dex) 为阳性对照进行评价。结果表明化合物 **1**、**3**、**5** 和 **7** 对炎症因子 NO 的产生具有显著的抑制作用 (表 2)。

**Table 2** Inhibition of lipopolysaccharide (LPS)-stimulated nitric oxide (NO) production by compounds **1**–**8**. Dex: Dexamethasone

Compound	NO inhibition rate	Cell proliferation inhibition rate
Dex	94.88%	8.26%
<b>1</b>	57.99%	7.63%
<b>2</b>	59.42%	26.18%
<b>3</b>	54.92%	11.97%
<b>4</b>	48.15%	33.37%
<b>5</b>	65.99%	6.67%
<b>6</b>	53.23%	26.29%
<b>7</b>	55.43%	11.54%
<b>8</b>	51.34%	37.64%

## 实验部分

V-650 紫外可见分光光度计、J-815 圆二色性偏光光度计 (日本 JASCO 公司); AUTOPOL V 自动旋光仪 (美国 Rudolph Research Analytical 公司); Nicolet 5700 傅立叶变换红外光谱仪、Nicolet is50 傅立叶变换红外光谱仪、Q Exactive 液相色谱-质谱联用系统 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); ECZ-400S (日本 JEOL 公司); WNMR-I 500 (Q.One Instruments Ltd.); Bruker

Av III 500/600 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); 硅胶 H、薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); LC-6AD 与 SPD-20A 制备型高效液相色谱仪系统 (日本 Shimadzu 公司); Agilent 1200 (分析型; 美国 Agilent 公司); UG80 5  $\mu\text{m}$ , 250 mm  $\times$  20 mm (日本 Shiseido 公司); 乙腈、甲醇 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 其余试剂均为国产分析纯。

北栽秧花于 2017 年 6 月采自云南省丽江市, 并由中国科学院昆明植物研究所张君老师鉴定为藤黄科金丝桃属植物北栽秧花 (*H. pseudohenryi*), 标本现存于中国医学科学院药物研究所植物标本室, 标本号为 No. ID-24705。

### 1 提取与分离

取干燥的北栽秧花地上部分 25.4 kg, 粉碎后用 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 3 h, 提取液减压回收溶剂后得浸膏 1.7 kg, 将此浸膏混悬于 5 L 水中, 用等体积石油醚萃取 3 次; 再将水层用等体积乙酸乙酯萃取 3 次, 合并减压回收溶剂得浸膏 1.2 kg。将该浸膏经 MCI 柱色谱, 60%~95% 乙醇梯度洗脱, 合并相同极性部分共得到 9 个组分 Fr. I~Fr. IX。流分 Fr. IV (232 g) 经 MCI 柱色谱, 45%~95% 乙醇梯度洗脱, 共得到 9 个组分 (Fr. IV.1~IV.9)。Fr. IV.7 (115.9 g) 经 DIOL 柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 合并得到 15 个组分 (Fr. IV.7.1~IV.7.15)。Fr. IV.7.8 (10.3 g) 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 得到 8 个组分 (Fr. IV.7.8.1~IV.7.8.8)。流分 Fr. IV.7.8.2 (295 mg) 经制备 HPLC (90% MeOH-H<sub>2</sub>O) 分离纯化, 得化合物 1 (15 mg); 流分 Fr. IV.7.8.3 (1 651 mg) 经制备 HPLC (93% MeOH-H<sub>2</sub>O) 分离纯化, 得化合物 2 (7 mg)、4 (32 mg)、6 (22 mg)、7 (28 mg)、8 (108 mg); 流分 Fr. IV.7.8.4 (814 mg) 经制备 HPLC (95% CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O) 分离纯化, 得化合物 3 (3 mg)、5 (35 mg)。

### 2 结构鉴定

**化合物 1** 无色油状物;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +22.4$  (c 0.71, MeOH); UV (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 204.0 (4.12) nm; ECD (MeOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ) 300.0 (+1.74), 336.0 (+0.38), 366.5 (-0.42), 388.0 (+0.16) nm; IR  $\nu_{\text{max}}$  2 974, 2 929, 2 872, 1 734, 1 722, 1 697, 1 448, 1 379, 1 057, 987  $\text{cm}^{-1}$ ; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) 和 <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) 数据见表 1; HR-ESI-MS  $m/z$  569.383 0 [M+H]<sup>+</sup> (计算值 569.383 7, C<sub>35</sub>H<sub>53</sub>O<sub>6</sub>)。

**化合物 2** 无色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  585.357 5, [M+H]<sup>+</sup> (计算值 585.357 5, C<sub>38</sub>H<sub>49</sub>O<sub>5</sub>); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 7.78 (1H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-12), 7.78 (1H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-16), 7.45 (1H, t,  $J = 6.4$  Hz, H-14), 7.31

(1H, t,  $J = 6.4$  Hz, H-13), 7.31 (1H, t,  $J = 6.4$  Hz, H-15), 5.93 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-33), 5.11 (1H, t,  $J = 6.4$  Hz, H-18), 4.90 (1H, t,  $J = 5.6$  Hz, H-28), 4.72 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-23), 4.42 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-35), 3.66 (1H, t,  $J = 9.2$  Hz, H-34), 3.16~3.27 (1H, m, H-17), 2.72 (1H, dd,  $J = 10.4, 7.2$  Hz, H-22a), 2.59 (1H, m, H-7), 2.37 (1H, d,  $J = 5.6$  Hz, H-6a), 2.37 (1H, dd,  $J = 10.4, 7.2$  Hz, H-22b), 1.97~2.12 (2H, m, H-27), 1.72 (3H, s, H-20), 1.69 (3H, s, H-30), 1.66 (3H, s, H-21), 1.64 (3H, s, H-32), 1.58 (3H, s, H-31), 1.53 (3H, s, H-25), 1.42 (1H, t,  $J = 10.4$  Hz, H-6b), 1.38 (3H, s, H-26), 1.34 (3H, s, H-37), 1.31 (3H, s, H-38); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 74.6 (C-1), 166.1 (C-2), 125.0 (C-3), 199.7 (C-4), 62.8 (C-5), 43.4 (C-6), 39.0 (C-7), 145.8 (C-8), 204.7 (C-9), 195.5 (C-10), 136.8 (C-11), 128.4 (C-12), 128.6 (C-13), 132.8 (C-14), 128.6 (C-15), 128.4 (C-16), 22.6 (C-17), 120.7 (C-18), 133.2 (C-19), 26.1 (C-20), 18.1 (C-21), 40.0 (C-22), 118.2 (C-23), 136.1 (C-24), 26.2 (C-25), 17.7 (C-26), 32.9 (C-27), 122.0 (C-28), 133.6 (C-29), 25.9 (C-30), 18.3 (C-31), 19.3 (C-32), 134.6 (C-33), 51.5 (C-34), 73.2 (C-35), 90.8 (C-36), 28.5 (C-37), 19.9 (C-38)。以上数据与文献<sup>[1]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物为 hyperbeanin P。

**化合物 3** 无色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  553.388 7, [M+H]<sup>+</sup> (计算值 585.388 7, C<sub>35</sub>H<sub>53</sub>O<sub>5</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H}}$ : 5.08 (1H, br dd,  $J = 6.8, 5.2$  Hz, H-27), 5.04 (1H, m, H-17), 4.94 (1H, m, H-22), 4.63 (1H, dd,  $J = 10.8, 10.8$  Hz, H-32), 4.55 (1H, dd,  $J = 10.8, 10.8$  Hz, H-32), 3.11 (1H, br dd,  $J = 14.4, 14.4$  Hz, H-26a), 3.00 (1H, br dd,  $J = 14.4, 14.4$  Hz, H-26b), 2.64 (1H, dd,  $J = 13.2, 13.2$  Hz, H-31a), 2.14 (1H, m, H-16a), 2.05 (1H, m, H-15a), 2.01 (1H, br dd,  $J = 8.0, 8.0$  Hz, H-5a), 1.99 (1H, qq,  $J = 8.0, 8.0$  Hz, H-11), 1.95 (1H, m, H-16b), 1.80 (2H, m, H-21), 1.77 (1H, dd,  $J = 12.0, 12.0$  Hz, H-31b), 1.70 (3H, s, H-24), 1.70 (3H, s, H-30), 1.68 (3H, br s, H-19), 1.68 (3H, br s, H-29), 1.63 (3H, br s, H-20), 1.62 (1H, m, H-4), 1.58 (3H, s, H-25), 1.51 (1H, dd,  $J = 2.4, 2.8$  Hz, H-5b), 1.36 (3H, s, H-34), 1.30 (1H, m, H-15b), 1.20 (3H, s, H-35), 1.08 (3H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-12), 1.03 (3H, s, H-14), 1.00 (3H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-13); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{C}}$ : 204.7 (C-1), 83.4 (C-2), 48.4 (C-3), 43.4 (C-4), 38.2 (C-5), 59.6 (C-6), 173.1 (C-7), 116.8 (C-8), 192.9 (C-9), 209.6 (C-10), 42.1 (C-11), 20.5 (C-12), 21.5 (C-13), 13.6 (C-14), 36.5 (C-15), 25.3 (C-16), 124.9 (C-17), 131.2 (C-18), 25.8 (C-19), 17.8 (C-20),

27.0 (C-21), 122.4 (C-22), 133.7 (C-23), 25.8 (C-24), 18.0 (C-25), 22.3 (C-26), 121.3 (C-27), 132.7 (C-28), 25.8 (C-29), 17.8 (C-30), 30.3 (C-31), 90.3 (C-32), 71.0 (C-33), 27.2 (C-34), 24.2 (C-35)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物为 furohyperforin。

**化合物4** 无色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  567.405 1,  $[M+H]^+$  (计算值 567.404 4,  $C_{36}H_{55}O_5$ );  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 5.11 (1H, br t,  $J = 4.8$  Hz, H-17), 5.11 (1H, br t,  $J = 4.8$  Hz, H-27), 4.88 (1H, t,  $J = 4.4$  Hz, H-22), 4.61 (1H, dd,  $J = 3.2, 7.2$  Hz, H-32), 3.09 (1H, dd,  $J = 4.0, 10.4$  Hz, H-26a), 2.97 (1H, dd,  $J = 5.2, 10.4$  Hz, H-26b), 2.61 (1H, dd,  $J = 7.2, 9.6$  Hz, H-31a), 2.15 (2H, m, H-21), 2.13 (1H, m, H-16a), 2.01 (1H, dd,  $J = 2.8, 10.0$  Hz, H-5a), 1.93 (1H, m, H-15a), 1.92 (1H, m, H-16b), 1.84 (1H, dd,  $J = 3.6, 9.6$  Hz, H-31b), 1.72 (1H, m, H-11), 1.70 (3H, s, H-24), 1.70 (3H, s, H-30), 1.69 (2H, m, H-13b), 1.67 (3H, s, H-29), 1.64 (3H, s, H-19), 1.62 (1H, m, H-4), 1.59 (3H, s, H-20), 1.57 (3H, s, H-25), 1.54 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-5b), 1.30 (1H, m, H-15b), 1.30 (3H, s, H-34), 1.22 (1H, m, H-13a), 1.18 (1H, s, H-35), 1.03 (3H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-12), 1.01 (3H, s, H-14), 0.74 (13- $OCH_3$ );  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_C$ : 204.6 (C-1), 83.3 (C-2), 48.5 (C-3), 43.0 (C-4), 37.8 (C-5), 59.6 (C-6), 174.7 (C-7), 116.2 (C-8), 193.4 (C-9), 209.7 (C-10), 48.5 (C-11), 16.7 (C-12), 27.2 (C-13), 13.1 (C-14), 36.5 (C-15), 24.8 (C-16), 124.6 (C-17), 130.7 (C-18), 24.8 (C-19), 16.7 (C-20), 27.2 (C-21), 122.2 (C-22), 133.2 (C-23), 26.8 (C-24), 16.7 (C-25), 21.7 (C-26), 121.4 (C-27), 131.8 (C-28), 24.8 (C-29), 16.7 (C-30), 29.5 (C-31), 90.8 (C-32), 70.0 (C-33), 26.8 (C-34), 24.2 (C-35), 10.6 (13- $OCH_3$ )。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物为 furoadhyperforin。

**化合物5** 无色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  587.372 8,  $[M+H]^+$  (计算值 587.373 1,  $C_{38}H_{51}O_5$ );  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta_H$ : 7.56 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-12), 7.56 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-16), 7.48 (1H, t,  $J = 9.5$  Hz, H-14), 7.34 (1H, dd,  $J = 8.8, 7.2$  Hz, H-13), 7.34 (1H, dd,  $J = 10.0, 9.5$  Hz, H-15), 5.02 (1H, m, H-19), 4.99 (1H, m, H-25), 4.95 (1H, m, H-30), 4.59 (1H, t,  $J = 10.0$  Hz, H-35), 2.94 (1H, dd,  $J = 10.0, 4.5$  Hz, H-34), 2.56 (1H, m, H-29b), 2.47 (1H, m, H-29a), 2.11 (1H, m, H-24), 2.09 (1H, m, H-18), 2.01 (1H, m, H-9a), 1.80 (1H, m, H-8), 1.69 (1H, m, H-17), 1.67 (3H, s, H-27), 1.67 (3H, s, H-32), 1.66 (3H, s, H-33), 1.64 (3H, s, H-21), 1.59 (3H, s, H-22), 1.57 (3H, s, H-28), 1.44 (1H, m, H-9b), 1.25 (3H,

s, H-23), 0.90 (3H, s, H-37), 0.86 (3H, s, H-38);  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta_C$ : 70.7 (C-1), 207.0 (C-2), 65.1 (C-3), 190.6 (C-4), 171.8 (C-5), 118.9 (C-6), 49.5 (C-7), 41.6 (C-8), 41.1 (C-9), 193.4 (C-10), 137.8 (C-11), 128.6 (C-12), 128.3 (C-13), 132.8 (C-14), 128.3 (C-15), 128.6 (C-16), 38.0 (C-17), 25.8 (C-18), 124.4 (C-19), 131.9 (C-20), 25.8 (C-21), 17.9 (C-22), 15.0 (C-23), 28.3 (C-24), 122.3 (C-25), 133.8 (C-26), 25.8 (C-27), 17.9 (C-28), 29.5 (C-29), 119.6 (C-30), 134.9 (C-31), 18.2 (C-32), 26.0 (C-33), 26.2 (C-34), 93.7 (C-35), 70.7 (C-36), 24.0 (C-37), 26.5 (C-38)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物为 ascyronone F。

**化合物6** 无色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  553.388 7,  $[M+H]^+$  (计算值 553.388 7,  $C_{35}H_{53}O_5$ );  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta_H$ : 5.00 (1H, dd,  $J = 9.2, 5.6$  Hz, H-20), 5.00 (1H, dd,  $J = 9.2, 5.6$  Hz, H-32), 4.94 (1H, t,  $J = 6.0$  Hz, H-25), 4.77 (1H, t,  $J = 8.0$  Hz, H-11), 2.95 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-10), 2.55 (1H, dd,  $J = 8.8, 5.2$  Hz, H-16), 2.44 (2H, dd,  $J = 10.4, 5.6$  Hz, H-19), 2.07 (1H, dd,  $J = 6.0, 4.8$  Hz, H-24a), 2.00 (1H, dd,  $J = 8.8, 5.2$  Hz, H-31a), 1.94 (1H, dd,  $J = 8.4, 5.2$  Hz, H-31b), 1.78 (2H, dd,  $J = 9.2, 2.8$  Hz, H-6), 1.70 (1H, m, H-24b), 1.68 (1H, s, H-7), 1.67 (3H, s, H-27), 1.67 (2H, s, H-30), 1.64 (3H, s, H-23), 1.63 (3H, s, H-33), 1.57 (3H, s, H-35), 1.55 (3H, s, H-28), 1.42 (3H, m, H-13), 1.22 (3H, s, H-14), 1.20 (3H, s, H-18), 1.18 (3H, s, H-17), 1.12 (3H, s, H-29);  $^{13}C$  NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta_C$ : 74.2 (C-1), 171.6 (C-2), 120.8 (C-3), 190.8 (C-4), 64.0 (C-5), 39.6 (C-6), 42.4 (C-7), 47.7 (C-8), 205.8 (C-9), 26.9 (C-10), 94.0 (C-11), 71.2 (C-12), 27.1 (C-13), 25.4 (C-14), 208.9 (C-15), 41.0 (C-16), 21.2 (C-17), 21.2 (C-18), 29.4 (C-19), 119.7 (C-20), 134.4 (C-21), 26.0 (C-22), 18.2 (C-23), 28.3 (C-24), 122.4 (C-25), 133.6 (C-26), 26.1 (C-27), 17.9 (C-28), 14.6 (C-29), 38.2 (C-30), 24.4 (C-31), 124.5 (C-32), 131.8 (C-33), 25.8 (C-34), 18.2 (C-35)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物为 attenuatumione E。

**化合物7** 无色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  569.383 5,  $[M+H]^+$  (计算值 569.383 6,  $C_{35}H_{53}O_6$ );  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta_H$ : 5.09 (1H, t,  $J = 6.4$  Hz, H-18), 5.01 (1H, t,  $J = 6.0$  Hz, H-35), 4.87 (1H, t,  $J = 6.0$  Hz, H-28), 3.79 (1H, m, H-23), 2.91 (1H, sept,  $J = 4.8$  Hz, H-11), 2.69 (1H, dd,  $J = 8.0, 6.4$  Hz, H-17a), 2.55 (1H, dd,  $J = 8.0, 6.4$  Hz, H-17b), 2.15 (2H, t,  $J = 8.8$  Hz, H-6), 2.06 (1H, m, H-34a), 2.05 (2H, m, H-22), 1.87 (1H, m, H-34b), 1.75 (1H, m, H-33a), 1.68 (2H, t,  $J = 4.0$  Hz, H-27), 1.65

(3H, s, H-30), 1.65 (3H, s, H-20), 1.64 (3H, s, H-21), 1.62 (3H, s, H-37), 1.55 (3H, s, H-38), 1.52 (3H, s, H-31), 1.43 (3H, s, H-25), 1.33 (3H, s, H-26), 1.27 (3H, s, H-32), 1.24 (1H, m, H-33b), 1.09 (3H, d,  $J = 4.8$  Hz, H-13), 0.92 (3H, d,  $J = 4.8$  Hz, H-12), 0.75 (1H, m, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 77.4 (C-1), 206.9 (C-2), 97.5 (C-3), 210.0 (C-4), 46.7 (C-5), 35.2 (C-6), 46.7 (C-7), 45.2 (C-8), 110.0 (C-9), 210.0 (C-10), 44.3 (C-11), 21.0 (C-12), 19.6 (C-13), 24.2 (C-14), 117.1 (C-15), 137.8 (C-16), 26.0 (C-17), 18.0 (C-18), 31.4 (C-19), 69.1 (C-20), 80.5 (C-21), 28.0 (C-22), 25.9 (C-23), 28.9 (C-24), 123.9 (C-25), 133.9 (C-26), 26.1 (C-27), 18.2 (C-28), 13.8 (C-29), 39.0 (C-30), 26.6 (C-31), 125.9 (C-32), 132.0 (C-33), 26.1 (C-34), 17.8 (C-35)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物为hyphenrone T。

**化合物8** 无色油状物; HR-ESI-MS  $m/z$  639.386 5,  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (计算值 639.386 7,  $\text{C}_{36}\text{H}_{49}\text{O}_8\text{Na}$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$ : 5.08 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, H-16), 4.89 (1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-26), 3.79 (1H, t,  $J = 4.4$  Hz, H-21), 3.26 (1H, overlapped, H-33), 3.18 (34-OCH<sub>3</sub>), 2.97 (1H, sept,  $J = 6.4$  Hz, H-11), 2.66 (1H, dd,  $J = 15.2, 7.2$  Hz, H-15b), 2.56 (1H, dd,  $J = 15.2, 7.8$  Hz, H-15a), 2.29 (2H, overlapped, H-6), 2.12 (2H, m, H-25), 2.08 (2H, dd,  $J = 14.8, 4.2$  Hz, H-20), 1.67 (3H, s, H-18), 1.67 (3H, s, H-28), 1.64 (3H, s, H-19), 1.53 (3H, s, H-29), 1.43 (3H, s, H-23), 1.32 (3H, s, H-24), 1.26 (3H, s, H-30), 1.82 (2H, m, H-31), 1.22 (2H, m, H-32), 1.09 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-13), 1.09 (3H, s, H-35), 1.05 (3H, s, H-36), 0.92 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-12), 0.78 (1H, m, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 76.9 (C-1), 206.5 (C-2), 97.0 (C-3), 209.3 (C-4), 49.2 (C-5), 34.7 (C-6), 46.5 (C-7), 44.8 (C-8), 109.6 (C-9), 209.3 (C-10), 44.8 (C-11), 21.0 (C-12), 19.7 (C-13), 23.9 (C-14), 117.0 (C-15), 137.2 (C-16), 26.1 (C-17), 18.2 (C-18), 30.5 (C-19), 68.7 (C-20), 80.0 (C-21), 27.8 (C-22), 26.1 (C-23), 28.4 (C-24), 124.0 (C-25), 133.2 (C-26), 26.1 (C-27), 18.1 (C-28), 13.8 (C-29), 36.2 (C-30), 29.3 (C-31), 77.9 (C-32), 78.0 (C-33), 21.0 (C-34), 20.9 (C-35), 49.2 (34-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物为hyperforatone N。

### 3 抗炎活性筛选

实验选用的细胞株为原代小鼠腹腔巨噬细胞, 其可在细菌脂多糖LPS诱导下产生NO等炎性因子, 参与并介导炎症反应, 在多种炎症免疫过程初期与病理发展过程中均有较高的水平。通过检测原代培养的小鼠巨噬

细胞NO生成量, 可作为体外初步观察和筛选有一定抗炎活性的组分或化合物的指标。取原代小鼠腹腔巨噬细胞接种于96孔板中, 加入待测化合物 ( $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和同等浓度的阳性对照药Dex预保护1 h; 然后, 加入  $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  的LPS于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养24 h后, 收集上清液, 采用Griess法测定NO的含量 (NO抑制率%), 同时用MTT法测定细胞增殖抑制率。该实验方案下, 表2中的化合物1、3、5和7在  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  对LPS诱导原代小鼠腹腔巨噬细胞NO生成具有显著的抑制活性, 结果表明具有潜在抗炎活性。

**致谢:** 中国医学科学院药物研究所药理学研究室林明宝老师提供平台并进行抗炎活性实验。

**作者贡献:** 马永慧负责实验、结构鉴定、论文撰写; 孙浩然负责进行分离实验和部分化合物结构鉴定; 吉腾飞负责研究选题、方案设计及论文修改; 李进负责方案设计及论文修改。

**利益冲突:** 本文不存在任何利益冲突。

### References

- [1] Yang XW, Grossman RB, Xu G. Research progress of polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols [J]. Chem Rev, 2018, 118: 3508-3558.
- [2] Ciocchina R, Grossman RB. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols [J]. Chem Rev, 2006, 106: 3963-3986.
- [3] Jia MR, Li XW. Chinese Ethnic Medicine Records (中国民族药志要) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2005: 388.
- [4] Miao YM, Zhong YL, Wei ZF. Morin inhibits the imbalance of Th17/Treg to alleviate collagen-induced arthritis in mice [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 1010-1016.
- [5] Shi DQ, Wang Y, Rao KR, et al. Sesquiterpenoids and iridoids from *Valeriana jatamansi* with anti-inflammatory and anti-influenza virus properties [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 428-432.
- [6] Li JF, Yao LG, Zeng YB, et al. Chemical constituents of soft coral *Sarcophyton glaucum* collected from Xisha and their anti-inflammatory activity [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 741-749.
- [7] Fan XH, Li K, Yang YD, et al. Screening for anti-inflammatory components of *Astragalus polysaccharide* and metabolomics research based on molecular weight distribution [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2022, 57: 783-792.
- [8] Sun HR, Sun MX, Wang JJ, et al. Polycyclic polyprenylated acylphloroglucinol derivatives from *Hypericum pseudohenry* [J]. Phytochemistry, 2021, 178: 112761.
- [9] Karplus M. Contact electron-spin coupling of nuclear magnetic moments [J]. J Chem Phys, 1959, 30: 11-15.
- [10] Duan YL, Hu P, Guo Y, et al. Kiiacylphnols A-H, eight unde-

- scribed polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols with anti-cancer activities from *Hypericum przewalskii* Maxim [J]. *Phytochemistry*, 2022, 199: 113166.
- [11] Suo XY, Liu XY, Liu XW, et al. Four new polyprenylated acylphloroglucinol derivatives from *Hypericum beanii* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021. DOI: 10.1080/10286020.2021.2016716.
- [12] Verotta L, Appendino G, Belloro E, et al. Furohyperforin, a prenylated phloroglucinol from st. John's wort (*Hypericum perforatum*) [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62: 770-772.
- [13] Lee JY, Duke RK, Tran VH, et al. Hyperforin and its analogues inhibit CYP3A4 enzyme activity [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67: 2550-2560.
- [14] Li ZP, Kim JY, Ban YJ, et al. Human neutrophil elastase (HNE) inhibitory polyprenylated acylphloroglucinols from the flowers of *Hypericum ascyron* [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 90: 103075.
- [15] Zhou ZB, Zhang YM, Pan K, et al. Cytotoxic polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum attenuatum* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 95: 1-7.
- [16] Liao Y, Yang SY, Li XN, et al. Polyprenylated acylphloroglucinols from the fruits of *Hypericum henryi* [J]. *Sci China Chem*, 2016, 59: 1216-1223.
- [17] Guo Y, Zhang N, Sun W, et al. Bioactive polycyclic polyprenylated acylphloroglucinols from *Hypericum perforatum* [J]. *Org Biomol Chem*, 2018, 16: 8130-8143.