

湖南产山檀乙酸乙酯部位化学成分及抗肿瘤活性研究

张珊珊^{1,2}, 韩月^{1,2}, 侯亚迪^{1,2}, 魏雨婕¹, 孙孝亚^{1,2*}, 陈随清^{1,2,3*}

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药资源与中药化学重点实验室, 河南 郑州 450046;
3. 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046)

摘要: 采用硅胶、MCI、Sephadex LH-20 及半制备高效液相等色谱技术进行分离纯化, 并根据 NMR、MS 等波谱数据确定化合物结构, 从湖南产山檀乙酸乙酯部位分离得到 20 个单体化合物, 分别鉴定为: (1''S,3''S,6''R)-2',4',6'-三羟基-3'-[1''-(3''-羟基)-对薄荷烷基]-查尔酮 (**1**)、sumadain D (**2**)、槲皮素 (**3**)、儿茶素 (**4**)、表儿茶素 (**5**)、*N*-顺式阿魏酰酪胺 (**6**)、*N*-反式阿魏酰酪胺 (**7**)、*N*-反式-阿魏酰-3-甲氧基酪胺 (**8**)、flavifloramides B (**9**)、nortalifoline (**10**)、异落叶松脂素 (**11**)、丁香树脂酚 (**12**)、松脂素 (**13**)、皮树脂醇 (**14**)、二氢去氢二愈创木基醇 (**15**)、4-methoxyl-denudaquinol (**16**)、miliusal (**17**)、丁香酸 (**18**)、脱落酸 (**19**)、桂酸桂酯 (**20**)。化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**20** 首次从山檀中分离得到。抗肿瘤活性筛选结果表明, 化合物 **1**、**2**、**3**、**16** 可以显著降低胃癌细胞 MGC-803 的存活能力, 其 IC₅₀ 值分别为 5.58、23.41、25.72、20.96 μmol·L⁻¹。化合物 **5**、**20** 可以降低胃癌细胞 MGC-803 的存活能力, IC₅₀ 值分别为 98.83、89.26 μmol·L⁻¹。

关键词: 山檀; 抗肿瘤活性; 黄酮; 酰胺; 木脂素

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)06-1741-10

Study on the chemical constituents and antitumor activity of ethyl acetate extract of *Lindera reflexa* from Hunan province

ZHANG Shan-shan^{1,2}, HAN Yue^{1,2}, HOU Ya-di^{1,2}, WEI Yu-jie¹, SUN Xiao-ya^{1,2*}, CHEN Sui-qing^{1,2,3*}

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Henan Key Laboratory of Chinese Medicine Resources and Chinese Medicine Chemistry, Zhengzhou 450046, China; 3. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases Co-constructed by Henan Province & Education Ministry of P. R. China, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: The compounds were isolated and purified by silica gel, MCI, Sephadex LH-20 and semi-preparative high performance liquid chromatography. The structures of the compounds were determined by NMR and MS spectroscopic data. Twenty monomer compounds were isolated from the ethyl acetate extract of *Lindera reflexa* root from Hunan province, and identified as: (1''S,3''S,6''R)-2',4',6'-trihydroxy-3'-[1''-(3''-hydroxy)-*p*-menthanyl]-chalcone (**1**), sumadain D (**2**), quercetin (**3**), catechin (**4**), epicatechin (**5**), *N*-*cis*-feruloyltyramine (**6**), *N*-*trans*-feruloyltyramine (**7**), *N*-*trans*-feruloyl-3-methoxytyramine (**8**), flavifloramides B (**9**), nortalifoline (**10**), isolaricresinol (**11**), syringaresinol (**12**), pinosresinol (**13**), medioresinol (**14**), dehydroconiferyl alcohol (**15**), 4-methoxyl-denudaquinol (**16**), miliusal (**17**), syringic acid (**18**), abscisic acid (**19**), (*E*)-cinnamyl- (*E*)-cinnamate (**20**). Compound **1** is a new compound, and compounds **2**–**20** have been isolated from *Lindera reflexa* for the first time. The results showed that compounds **1**, **2**, **3** and **16** could significantly reduce the survival ability of MGC-803

收稿日期: 2023-11-10; 修回日期: 2024-02-19.

基金项目: 河南省科技攻关项目 (212102310353); 国家自然科学基金资助项目 (81773859).

*通讯作者 E-mail: sxy7336@163.com; suiqingchen0371@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-1279

cells with IC_{50} values of 5.58, 23.41, 25.72 and 20.96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Compounds **5** and **20** can reduce the survival ability of MGC-803 cells with IC_{50} values of 98.83 and 89.26 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively.

Key words: *Lindera reflexa*; antitumor activity; flavonoid; amide; lignane

山柽为樟科山胡椒属植物山柽 (*Lindera reflexa* Hemsl.) 的根, 主产于河南、江苏、安徽等地, 植物资源丰富^[1]。山柽为近代发现的民间草药, 其性辛、温, 有止血消肿、行气止痛等功效, 用于治疗疥癣、风疹、胃痛等^[2]。现代研究证明其临床疗效确切, 在河南省大别山区民间用于治疗慢性胃炎和胃溃疡等^[3]。文献报道山柽中主要包括黄酮类、二苯乙烯类、生物碱类、香豆素类、吡喃酮类以及挥发油类等化学成分^[4-11], 具有抗炎、镇痛、抗胃溃疡、抑菌、抗肿瘤等药理作用^[9-13]。目前, 山柽在河南地区作为中成药原料使用, 为了扩大新药源, 本课题组前期对河南与湖南产山柽根进行了大量的化学成分和药理活性研究, 结果表明两者之间化

学成分存在一定的差异, 为更深入研究并揭示山柽的活性成分, 扩大新药源, 为临床药用和开发应用提供科学依据, 本实验对湖南产山柽乙酸乙酯部位进行了化学成分研究, 从中分离得到20个化合物, 包括5个黄酮类化合物 (**1**~**5**)、5个酰胺类化合物 (**6**~**10**)、5个木脂素类化合物 (**11**~**15**)、2个萜类化合物 (**16**、**17**)、3个其他类化合物 (**18**~**20**), 结构见图1。化合物**1**为新化合物, 化合物**2**~**20**首次从山柽中分离得到。细胞毒活性实验表明化合物**1**、**2**、**3**、**5**、**16**、**20**对胃癌细胞MGC-803有不同程度的细胞毒活性, IC_{50} 值分别为5.58、23.41、25.72、98.83、20.96、89.26 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

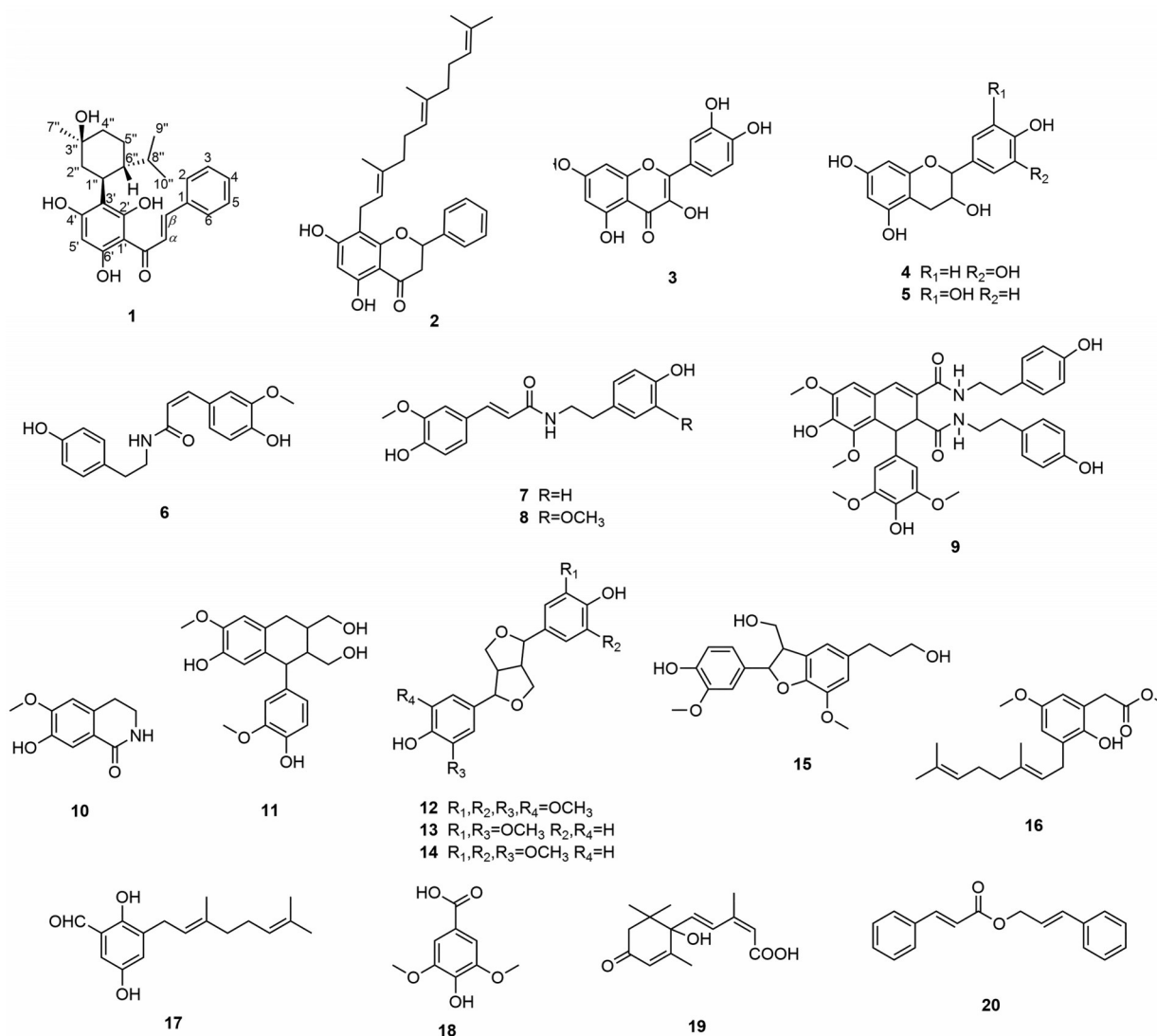


Figure 1 Structures of compounds 1-20

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 **1** 棕色油状物, $[\alpha]_D^{25} = -46.8$ (c 0.05, MeOH), HR-ESI-MS m/z : 393.205 8 $[M-H_2O+H]^+$ (calcd. 393.206 0), 分子式为 $C_{25}H_{30}O_5$ 。UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 220.20 (3.41) nm, 348.20 (3.11) nm; IR 光谱数据显示该结构中含有羟基 (3 363, 1 036 cm^{-1})、羰基 (1 627 cm^{-1})、苯环 (1 554, 1 504 cm^{-1})、甲基 (2 944, 1 342 cm^{-1})、亚甲基 (2 836 cm^{-1}) 等官能团。 1H NMR 谱 (表 1) 中显示 3 个甲基氢信号 δ_H 1.44 (3H, s, H-7''), 1.09 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-9''), 0.74 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-10''); 3 个亚甲基氢信号 δ_H 1.88 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-2''a), 1.73 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-2''b), 2.02 (1H, d, $J = 13.3$ Hz, H-4''a), 1.66~1.58 (1H, m, H-4''b), 1.66~1.58 (1H, m, H-5''a), 1.31~1.26 (1H, m, H-5''b); 11 个次甲基信号 δ_H 7.60 (2H, d, $J = 12.3$ Hz, H-2,6), 7.44~7.33 (3H, m, H-3, 4, 5), 7.62 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H- β), 8.00 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H- α), 5.86 (1H, s, H-5'), 3.48 (1H, s, H-1''), 1.31~1.26 (1H, m, H-6''), 1.38~1.34 (1H, m, H-8'')。 ^{13}C NMR 谱 (表 1) 中显示 23 个碳信号, 结合 HSQC 谱、DEPT 135 谱, 显示 δ_C 129.1, 130.0 分别代表两个碳原子, 因此该结构中含 25 个碳原子, 包括 3 个甲基碳、3 个亚甲基碳、11 个次甲基碳 (包括 8 个烯碳信号)、7 个季碳以及 1 个酮羰基碳信号。 1H NMR、 ^{13}C NMR 数据 (表 1) 结合 HMBC 和 1H - 1H COSY 相关 (图 2), 推断化合物 **1** 为一个含对薄荷基的查尔酮类结构, 且与化合物 linderachalcone^[14] 的结构相似, 不同之处在于, 对薄荷烯基在化合物 **1** 中被 3''-羟基-对薄荷烷基取代。在 HSQC 谱, δ_C 37.9 (C-2'') 与 δ_H 1.88 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-2''a)、1.73 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-2''b) 相关, 证明 δ_C 37.9 (C-2'') 为亚甲基碳。在 ^{13}C NMR 谱中, δ_C 78.0 (C-3'') 处于高场区, 且在 DEPT 135 谱中无信号峰, 证明 δ_C 78.0 (C-3'') 为季碳而非不含氢原子的烯碳。由此推断出化合物 **1** 的平面结构见图 2。在 NOESY 谱图 (图 2) 中, H-7'' 与 H-1'' 存在相关关系, 表明 H-7'' 与 H-1'' 共面; H-5'' 与 H-6'' 信号高度重叠, 无法通过 NOE 确定相对构型。为了进一步确定化合物的相对构型和绝对构型, 通过计算 NMR 与实验 NMR 对比, 通过直线回归方程的决定系数 R^2 区分 4 对差向异构体, 再通过计算 ECD 与实验 ECD 对比确定绝对构

型。结果显示 (1''S,3''S,6''R)-**1** 的 ^{13}C NMR、 1H NMR 计算值与实验值比较接近, 相关系数 R^2 最大, CMAD 和 CLAD 值均在正常范围, 为最有可能的构型。接着进行了 DP4+ 概率分析 (表 2) 进行确证, 结果表明 (1''S, 3''S,6''R)-**1** 或其对映异构体 (1''R,3''R,6''S)-**1** 为正确的构型。为了进一步确定化合物 **1** 的绝对构型, 测定了其圆二色谱 (ECD), 通过密度泛函理论 (DFT) 计算, 当 C-1'', 3'' 位为 S 构型, C-6'' 为 R 构型时, 化合物 **1** 的理论计算 ECD 谱与实际测试图较为一致 (图 3), 进而确定化合物 **1** 的绝对构型为 (1''S,3''S,6''R)-**1**。因此, 鉴定化合物 **1** 的结构为 (1''S,3''S,6''R)-2', 4', 6'-三羟基-3'-[1''-(3''-羟基)-对薄荷烷基]-查尔酮。

Table 1 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) data of compound **1**

No.	δ_H	δ_C
1		137.1
2,6	7.60 (2H, d, $J = 12.3$ Hz)	129.1
3,5	7.44-7.33 (2H, m)	130.0
4	7.44-7.33 (1H, m)	131.0
β	7.62 (1H, d, $J = 15.7$ Hz)	141.8
α	8.00 (1H, d, $J = 15.7$ Hz)	129.6
C=O		194.1
1'		105.9
2'		166.2
3'		104.6
4'		161.4
5'	5.86 (1H, s)	95.3
6'		164.3
1''	3.48 (1H, s)	30.0
2''	1.88 (1H, d, $J = 12.6$ Hz)	37.9
	1.73 (1H, d, $J = 12.6$ Hz)	
3''		78.0
4''	2.02 (1H, d, $J = 13.3$ Hz)	41.4
	1.66-1.58 (1H, m)	
5''	1.66-1.58 (1H, m)	23.7
	1.31-1.26 (1H, m)	
6''	1.31-1.26 (1H, m)	51.4
7''	1.44 (3H, s)	29.3
8''	1.38-1.34 (1H, m)	30.8
9''	1.09 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)	23.2
10''	0.74 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)	20.8

2 体外抗肿瘤活性评价

MTT 法考察化合物对胃癌细胞 MGC-803 抑制活性测定结果见表 3。结果表明, 化合物 **1**~**3** 和 **16** 表现出明显的胃癌细胞 MGC-803 增殖抑制活性, 其 IC_{50} 值分别为 5.58、23.41、25.72、20.96 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 。化合物 **5**、**20**

Table 2 DP4+ analysis of (1''R,3''S,6''R)/(1''R,3''S,6''S)/(1''S,3''S,6''R)/(1''R,3''R,6''R)-**1**

Method	(1''R,3''S,6''R)- 1	(1''R,3''S,6''S)- 1	(1''S,3''S,6''R)- 1	(1''R,3''R,6''R)- 1
DP4+ (H data)	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%
DP4+ (C data)	0.04%	0.00%	92.01%	7.94%
DP4+ (all data)	0.00%	0.00%	100.00%	0.00%

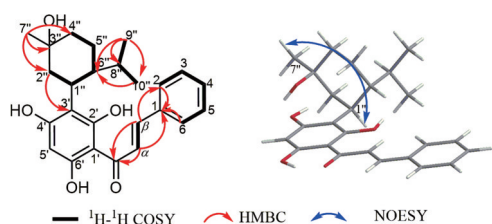


Figure 2 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC and NOESY correlations of compound **1**

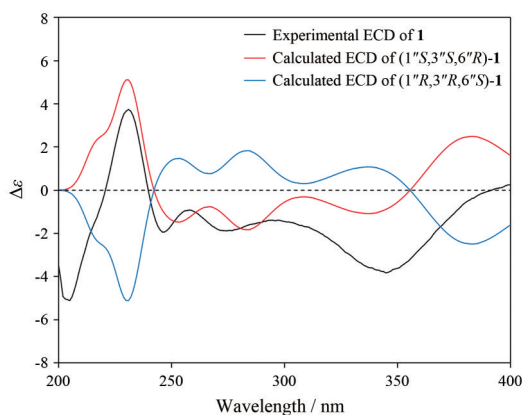


Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

表现出一定程度胃癌细胞 MGC-803 增殖抑制活性, IC_{50} 值分别为 98.83、89.26 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。其他化合物的 IC_{50} 值均大于 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 未表现出明显抗肿瘤活性。

Table 3 Inhibitory effects of compounds **1**–**20** on MGC-803 cell

Compound	$\text{IC}_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Compound	$\text{IC}_{50}/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
1	5.58	11	>100
2	23.41	12	>100
3	25.72	13	>100
4	>100	14	>100
5	98.83	15	>100
6	>100	16	20.96
7	>100	17	>100
8	>100	18	>100
9	>100	19	>100
10	>100	20	89.26

3 讨论

本实验通过对湖南产山檀的化学成分进行研究, 共从中分离鉴定了 20 个化合物, 包括 5 个黄酮类、5 个酰胺类、5 个木脂素类、2 个萜类、3 个其他类化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**20** 首次从山檀中分离得到, 本研究丰富了山檀的化学成分。对比报道从山檀分离出的化学成分可以发现, 不同产地的山檀化学成分存在一定差异, 河南产山檀化学成分以二苯乙烯类、黄酮类为主^[5-7,9-11], 而湖南产山檀化学成分以吡喃

酮类、黄酮类为主^[8], 截至目前, 未见从湖南产山檀分离出二苯乙烯类化合物的相关报道。化学成分是发挥药理药效的基础, 由此可见, 湖南产山檀与河南产山檀在药理药效方面可能存在一定区别。关于湖南产山檀与河南产山檀在化学成分、生物活性等方面的差异有待进一步研究。抗肿瘤活性筛选结果显示, 化合物 **1**~**3** 和 **16** 对胃癌细胞 MGC-803 的抑制作用较为显著, 其 IC_{50} 值分别为 5.58、23.41、25.72、20.96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 化合物 **5**、**20** 对胃癌细胞 MGC-803 有一定的抑制作用。其中化合物 **1**~**3** 和 **5** 均属于黄酮类化合物, 表明黄酮类化合物可以作为肿瘤药物的研究重点, 与文献^[9]报道一致。山檀中含有丰富的黄酮类化合物, 表明其可以作为潜在的抗肿瘤药物。山檀作为地方用药, 有其出色的临床疗效, 本研究为扩大药源、丰富山檀化学成分及探究其活性成分提供了一定的科学依据, 为后续山檀药用价值研究提供了一定的理论支撑和研究方向。

实验部分

LC-52 型半制备液相色谱仪 [赛普锐思 (北京) 科技有限公司]; Bruker AVANCE III 500 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); LTQ-Orbitrap XL Hybrid 型质谱仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); WFH-201BJ 型紫外可见透射反射仪 (上海精科实业有限公司); Autopol IV 全自动旋光仪 (美国鲁道夫公司); N-1100 型旋转蒸发仪 (日本东京理化器械株式会社); BT25S 型分析天平 (赛多利斯科技有限公司); 371 型 CO_2 培养箱、VAR-IOSKANLUX 型酶标仪 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]。柱色谱硅胶 (200~300 目)、薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 凝胶 (美国 GE 公司); MCI GEL CHP-20 (日本三菱公司); YMC-Pack ODS-A 色谱柱 (250 mm × 10 mm, 5 μm , 日本 YMC 有限公司); 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); RPMI-1640 培养基 (含双抗, 武汉普诺赛生命科技有限公司); 噻唑蓝 (北京索莱宝科技有限公司); 分析纯甲醇、石油醚、二氯甲烷等购买自天津市富宇精细化工有限公司; 色谱纯甲醇、乙腈购买自安徽天地高纯溶剂有限公司。

湖南产山檀药材于 2020 年 10 月采自湖南省湘潭市湘潭县, 经河南中医药大学陈随清教授鉴定为樟科山胡椒属山檀 (*Lindera reflexa* Hemsl.) 的根, 药材标本 (No.20201003) 保存于河南省中药资源与中药化学重点实验室。

1 提取分离

取湖南产山檀 15 kg, 用 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 滤过, 合并提取液, 减压浓缩得粗提物浸膏。

将浸膏用水混悬分散, 分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取, 得石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位。将乙酸乙酯部位减压浓缩得浸膏 1 153.0 g。

将乙酸乙酯部位 (1 153.0 g) 经硅胶柱色谱粗分, 以石油醚-丙酮系统 (100:1→1:1) 和二氯甲烷-甲醇系统 (100:1→0:100) 梯度洗脱, 合并得 7 个组分 Fr.1~Fr.7。Fr.2 (71.6 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯系统和二氯甲烷-甲醇系统梯度洗脱, 合并得 8 个组分 Fr.2.1~Fr.2.8。Fr.2.1 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯系统 (200:1→1:1) 梯度洗脱, 合并得 5 个组分 Fr.2.1.1~Fr.2.1.5。Fr.2.1.3 经半制备高效液相 (乙腈-水, 77:23) 纯化得化合物 **20** ($t_R = 26.1$ min; 74.7 mg)。

Fr.3 (880.0 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (50:1→1:1) 梯度洗脱, 合并得 21 个组分 Fr.3.1~Fr.3.21。Fr.3.7 (2.1 g) 经半制备液相梯度 (甲醇-水, 70:30→100:0) 洗脱得到化合物 **16** ($t_R = 30.0$ min; 5.0 mg)。Fr.3.8 (1.0 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 洗脱, 合并得到 6 个组分 Fr.3.8.1~Fr.3.8.6, Fr.3.8.6 (107.0 mg) 经过半制备液相 (乙腈-水, 90:10) 纯化得化合物 **2** ($t_R = 15.4$ min; 4.1 mg)。Fr.3.9 (3.0 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 洗脱, 合并得 4 个组分 Fr.3.9.1~Fr.3.9.4。Fr.3.9.4 (1.2 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 洗脱, 合并得 8 个组分 Fr.3.9.4.1~Fr.3.9.4.8。Fr.3.9.4.3 经半制备液相 (甲醇-水, 85:15) 纯化得化合物 **17** ($t_R = 14.1$ min; 47.8 mg)。Fr.3.9.4.6 (104.0 mg) 经半制备液相 (乙腈-水, 70:30) 纯化得化合物 **1** ($t_R = 48.5$ min; 10.7 mg)。Fr.3.18 (101.0 g) 经 MCI 柱色谱分离, 以甲醇-水 (10:90→100:0) 梯度洗脱, 合并得 10 个组分 Fr.3.18.1~Fr.3.18.10。Fr.3.18.2 (3.8 g) 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1→0:1) 洗脱后, 合并得 7 个组分 Fr.3.18.2.1~Fr.3.18.2.7。Fr.3.18.2.2 (0.6 g) 再经过半制备高效液相色谱 (甲醇-水, 70:30) 纯化得到化合物 **18** ($t_R = 4.0$ min; 7.6 mg)。Fr.3.18.4 (5.8 g) 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1→0:1) 洗脱后, 合并得 5 个组分 Fr.3.18.4.1~Fr.3.18.4.5。Fr.3.18.4.2 再经过半制备高效液相色谱 (甲醇-水, 65:35) 纯化得化合物 **19** ($t_R = 4.3$ min; 2.0 mg) 和化合物 **3** ($t_R = 8.8$ min; 24.1 mg)。Fr.3.18.6 (12.8 g) 经过 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 洗脱, 合并得 6 个组分 Fr.3.18.6.1~Fr.3.18.6.6。Fr.3.18.6.3 经半制备高效液相 (甲醇-水, 41:59) 进一步纯化得化合物 **13** ($t_R = 33.1$ min; 17.4 mg)。Fr.3.19 (16.5 g) 经 MCI 柱色谱分离, 以甲醇-水 (10:90→100:0) 梯度洗脱, 合并得

到 7 个组分 Fr.3.19.1~Fr.3.19.7。Fr.3.19.3 经过半制备高效液相色谱 (甲醇-水, 52:48) 纯化得到化合物 **14** ($t_R = 11.4$ min; 4.5 mg)。Fr.3.19.4 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1→0:1) 梯度洗脱后, 经过半制备高效液相色谱 (甲醇-水, 36:64) 进一步纯化, 得到化合物 **11** ($t_R = 17.8$ min; 6.0 mg)、**6** ($t_R = 27.5$ min; 8.3 mg)、**12** ($t_R = 55.1$ min; 17.4 mg)、**7** ($t_R = 57.7$ min; 18.5 mg) 和 **8** ($t_R = 66.0$ min; 9.7 mg)。

Fr.5 (30.1 g) 经 MCI 柱色谱分离, 以甲醇-水 (10:90→100:0) 梯度洗脱, 合并得到 6 个组分 Fr.5.1~Fr.5.6。Fr.5.2 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 洗脱, 合并得 8 个组分 Fr.5.2.1~Fr.5.2.8。Fr.5.2.2 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇系统 (100:0→0:100) 梯度洗脱, 合并得 8 个组分 Fr.5.2.2.1~Fr.5.2.2.8。Fr.5.2.2.3 经半制备高效液相 (乙腈-水, 23:77) 纯化得化合物 **10** ($t_R = 6.0$ min; 8.0 mg)、**15** ($t_R = 27.2$ min; 4.0 mg)。Fr.5.2.5 经半制备高效液相 (乙腈-水, 14:86) 纯化得化合物 **4** ($t_R = 11.1$ min; 7.1 mg)、**5** ($t_R = 20.0$ min; 5.4 mg)。Fr.5.4 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 洗脱, 合并得 5 个组分 Fr.5.4.1~Fr.5.4.5。Fr.5.4.1 经半制备高效液相 (乙腈-水, 26:74) 进一步纯化, 得到化合物 **9** ($t_R = 35.2$ min; 9.7 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 棕色油状物, HR-ESI-MS m/z : 393.205 8 $[M-H_2O+H]^+$ (calcd. 393.206 0), 分子式为 $C_{25}H_{30}O_5$; $[\alpha]_D^{25} = -46.8$ (c 0.05, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 220.20 (3.41), 348.20 (3.11); IR ν_{max} 3 363, 2 944, 2 836, 1 627, 1 554, 1 504, 1 342, 1 036 cm^{-1} ; 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 数据见表 1。

化合物 **2** 黄色粉末, ESI-MS m/z : 461 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{30}H_{36}O_4$ 。 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 12.34 (1H, s, 5-OH), 7.42~7.29 (5H, m, H-2',3',4',5',6'), 6.14 (1H, s, 7-OH), 5.95 (1H, s, H-6), 5.34 (1H, dd, $J = 12.9$, 2.9 Hz, H-2), 5.21 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-2''), 5.02 (2H, q, $J = 5.9$ Hz, H-6'', 10''), 3.32 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 3.02 (1H, dd, $J = 17.1$, 13.0 Hz, H-3a), 2.76 (1H, dd, $J = 17.1$, 3.0 Hz, H-3b), 2.04 (4H, dt, $J = 18.3$, 6.1 Hz, H-4'', 5''), 1.94 (4H, dt, $J = 36.4$, 7.4 Hz, H-8'', 9''), 1.76 (3H, s, H-13''), 1.61 (3H, s, H-12''), 1.53 (6H, s, H-14'', 15''); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 195.9 (C-4), 164.0 (C-7), 161.2 (C-5), 161.0 (C-9), 139.6 (C-3''), 138.5 (C-1'), 135.7 (C-7''), 131.3 (C-11''), 128.8 (C-2',6'), 128.8 (C-4'), 126.1 (C-3',5'), 124.4 (C-10''), 123.5 (C-6''), 121.2 (C-2''), 106.8 (C-8), 102.9 (C-10), 95.7 (C-6), 79.1 (C-2), 43.5 (C-3), 39.7 (C-4''), 39.7 (C-8''), 26.7 (C-9''),

26.2 (C-5''), 25.7 (C-12''), 21.1 (C-1''), 17.7 (C-15''), 16.2 (C-13''), 16.0 (C-14'')。以上数据经查阅文献^[15]报道, 鉴定化合物**2**为sumadain D。

化合物**3** 黄绿色粉末, ESI-MS m/z : 303 [M+H]⁺, 分子式为C₁₅H₁₀O₇。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.72 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2'), 7.62 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.38 (1H, s, H-8), 6.17 (1H, d, J = 1.0 Hz, H-6); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 177.3 (C-4), 165.6 (C-7), 162.5 (C-5), 158.2 (C-9), 148.8 (C-4'), 148.0 (C-2), 146.3 (C-3'), 137.2 (C-3), 124.1 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.2 (C-5'), 116.0 (C-2'), 104.5 (C-10), 99.2 (C-6), 94.4 (C-8)。以上数据经查阅文献^[16]报道, 鉴定化合物**3**为槲皮素(queracetin)。

化合物**4** 白色粉末, ESI-MS m/z : 291 [M+H]⁺, 分子式为C₁₅H₁₄O₆。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.83 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 6.75 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.71 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6'), 5.92 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-8), 5.84 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-6), 4.55 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-2), 3.96 (1H, td, J = 7.9, 5.5 Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, J = 16.1, 5.4 Hz, H-4a), 2.49 (1H, dd, J = 16.1, 8.2 Hz, H-4b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 157.8 (C-7), 157.6 (C-5), 156.9 (C-9), 146.3 (C-3'), 146.2 (C-4'), 132.2 (C-1'), 120.0 (C-5'), 116.1 (C-6'), 115.2 (C-2'), 100.8 (C-10), 96.3 (C-6), 95.5 (C-8), 82.9 (C-2), 68.8 (C-3), 28.5 (C-4)。以上数据经查阅文献^[17]报道, 鉴定化合物**4**为儿茶素(catechin)。

化合物**5** 黄色粉末, ESI-MS m/z : 291 [M+H]⁺, 分子式为C₁₅H₁₄O₆。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.96 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 6.79 (1H, dd, J = 8.3, 1.9 Hz, H-6'), 6.75 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 5.93 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-8), 5.90 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6), 4.81 (1H, s, H-2), 4.17 (1H, ddd, J = 4.5, 3.0, 1.4 Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, J = 16.7, 4.6 Hz, H-4a), 2.73 (1H, dd, J = 16.8, 2.7 Hz, H-4b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 158.0 (C-5), 157.6 (C-7), 157.3 (C-9), 146.0 (C-3'), 145.8 (C-4'), 132.3 (C-1'), 119.4 (C-6'), 115.9 (C-2'), 115.3 (C-5'), 100.1 (C-10), 96.4 (C-6), 95.6 (C-8), 79.9 (C-2), 67.5 (C-3), 29.3 (C-4)。以上数据经查阅文献^[18]报道, 鉴定化合物**5**为表儿茶素(epicatechin)。

化合物**6** 绿色油状物, ESI-MS m/z : 314 [M+H]⁺, 分子式为C₁₈H₁₉NO₄。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.35 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 6.98 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.92 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6'), 6.73 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.69~6.66 (2H, m, H-3, 5), 6.60 (1H, d, J = 12.6 Hz, H-7'), 5.80 (1H, d, J = 12.6 Hz, H-8'),

3.82 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.42~3.34 (2H, m, H-8), 2.72~2.63 (2H, m, H-7); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 170.3 (C-9'), 156.9 (C-4), 148.6 (C-4'), 148.5 (C-3'), 138.4 (C-7'), 131.1 (C-1), 130.7 (C-2, 6), 128.5 (C-1'), 124.8 (C-6'), 121.6 (C-8'), 116.2 (C-3, 5), 115.8 (C-5'), 113.9 (C-2'), 56.4 (3'-OCH₃), 42.3 (C-8), 35.6 (C-7)。以上数据经查阅文献^[19]报道, 鉴定化合物**6**为*N*-顺式阿魏酰酪胺(*N*-*cis*-feruloyltyramine)。

化合物**7** 棕色油状物, ESI-MS m/z : 314 [M+H]⁺, 分子式为C₁₈H₁₉NO₄。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.42 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-7'), 7.09 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 7.06~7.02 (2H, m, H-2, 6), 7.00 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.73~6.69 (2H, m, H-3, 5), 6.39 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-8'), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.49~3.41 (2H, m, H-8), 2.74 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-7); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 169.2 (C-9'), 156.9 (C-4), 149.8 (C-4'), 149.3 (C-3'), 142.0 (C-7'), 131.3 (C-1), 130.7 (C-2, 6), 128.2 (C-1'), 123.2 (C-6'), 118.7 (C-8'), 116.4 (C-5'), 116.3 (C-3, 5), 111.5 (C-2'), 56.4 (3'-OCH₃), 42.5 (C-8), 35.8 (C-7)。以上数据经查阅文献^[20]报道, 鉴定化合物**7**为*N*-反式阿魏酰酪胺(*N*-*trans*-feruloyltyramine)。

化合物**8** 白绿色油状物, ESI-MS m/z : 344 [M+H]⁺, 分子式为C₁₉H₂₁NO₅。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.43 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-7'), 7.10 (1H, s, H-2'), 7.01 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-6'), 6.80 (1H, s, H-2), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.72 (1H, dd, J = 8.1, 4.2 Hz, H-5), 6.68~6.63 (1H, m, H-6), 6.40 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-8'), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.81 (3H, s, 3-OCH₃), 3.47 (2H, t, J = 7.3 Hz, H-8), 2.76 (2H, t, J = 7.3 Hz, H-7); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 169.2 (C-9'), 149.8 (C-3'), 149.3 (C-3), 148.9 (C-4'), 146.0 (C-4), 142.0 (C-7'), 132.0 (C-1), 128.3 (C-1'), 123.2 (C-6'), 122.2 (C-6), 118.7 (C-8'), 116.5 (C-5'), 116.2 (C-5), 113.4 (C-2), 111.5 (C-2'), 56.4 (3'-OCH₃), 56.3 (3-OCH₃), 42.5 (C-8), 36.20 (C-7)。以上数据经查阅文献^[21]报道, 鉴定化合物**8**为*N*-反式-阿魏酰-3-甲氧基酪胺(*N*-*trans*-feruloyl-3-methoxytyramine)。

化合物**9** 黄色油状物, ESI-MS m/z : 685 [M+H]⁺, 分子式为C₃₈H₄₀N₂O₁₀。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.27 (1H, s, H-4), 6.93 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2'', 6''), 6.82 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2''', 6'''), 6.76 (1H, s, H-5), 6.66~6.61 (4H, m, H-3'', 3''', 5'', 5'''), 6.33 (2H, s, H-2', 6'), 4.84 (1H, s, H-1), 3.91 (3H, s, 6-OCH₃), 3.69 (1H, s, H-2) 3.69 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.57 (3H, s, 8-OCH₃),

3.40 (1H, dd, $J = 13.4, 7.0$ Hz, H-a), 3.37~3.32 (2H, m, H-a'), 3.19 (1H, dt, $J = 13.6, 6.9$ Hz, H-a), 2.67 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-b'), 2.53 (2H, td, $J = 6.7, 2.6$ Hz, H-b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 174.0 (C-2a), 170.0 (C-3a), 156.9 (C-4'' or 4'''), 156.8 (C-4'' or 4'''), 149.2 (C-6), 149.0 (C-3', 5'), 147.0 (C-8), 143.1 (C-7), 135.3 (C-1'), 135.2 (C-4), 135.1 (C-4'), 131.3 (C-1''), 131.1 (C-1''), 130.8 (C-2'', 6''), 130.8 (C-2''', 6'''), 127.1 (C-3), 125.2 (C-8a), 124.3 (C-4a), 116.2 (C-3'', 5'' or 3''', 5'''), 116.2 (C-3'', 5'' or 3''', 5'''), 109.0 (C-5), 106.0 (C-2', 6'), 60.8 (8-OCH₃), 56.8 (6-OCH₃), 56.7 (3', 5'-OCH₃), 50.2 (C-2), 42.8 (C-a), 42.5 (C-a'), 41.6 (C-1), 35.6 (C-b'), 35.4 (C-b)。以上数据经查阅文献^[22]报道, 鉴定化合物**9**为 flavifloramides B。

化合物**10** 油状物, ESI-MS m/z : 194 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.34 (1H, s, H-8), 6.82 (1H, s, H-5), 3.90 (3H, s, 6-OCH₃), 3.45 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-3), 2.88 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-4); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 168.6 (C-1), 152.8 (C-6), 146.6 (C-7), 133.6 (C-10), 122.4 (C-9), 114.9 (C-8), 111.1 (C-5), 56.5 (6-OCH₃), 41.2 (C-3), 28.7 (C-4)。以上数据经查阅文献^[23]报道, 鉴定化合物**10**为 northalifoline。

化合物**11** 白色油状物, ESI-MS m/z : 361 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.73 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 6.65 (1H, s, H-2), 6.61 (1H, dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, H-6'), 6.17 (1H, s, H-5), 3.81~3.78 (1H, m, H-7'), 3.80 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.77 (3H, s, 3-OCH₃), 3.72~3.61 (3H, m, H-9, 9'a), 3.39 (1H, dd, $J = 11.3, 4.1$ Hz, H-9'b), 2.77 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, H-7), 2.06~1.94 (1H, m, H-8), 1.75 (1H, tt, $J = 10.1, 3.6$ Hz, H-8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 149.0 (C-3'), 147.2 (C-3), 146.0 (C-4'), 145.3 (C-4), 138.6 (C-1'), 134.1 (C-6), 129.0 (C-1), 123.2 (C-6'), 117.3 (C-5), 116.0 (C-5'), 113.8 (C-2'), 112.4 (C-2), 65.9 (C-9), 62.1 (C-9'), 56.4 (3 or 3'-OCH₃), 56.3 (3 or 3'-OCH₃), 48.0 (C-8'), 48.0 (C-7'), 40.0 (C-8), 33.6 (C-7)。以上数据经查阅文献^[24]报道, 鉴定化合物**11**为异落叶松脂素 (isolariciresinol)。

化合物**12** 白色油状物, ESI-MS m/z : 419 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.64 (4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.69 (2H, d, $J = 4.3$ Hz, H-7, 7'), 4.24 (2H, dd, $J = 9.0, 6.8$ Hz, H-9a, 9'a), 3.86 (2H, dd, $J = 9.2, 3.5$ Hz, H-9b, 9'b), 3.82 (12H, s, 3, 5, 3', 5'-OCH₃), 3.12 (2H, dd, $J = 6.4, 4.7$ Hz, H-8, 8');

^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 149.3 (C-3, 3', 5, 5'), 136.2 (C-4, 4'), 133.1 (C-1, 1'), 104.5 (C-2, 2', 6, 6'), 87.6 (C-7, 7'), 72.7 (C-9, 9'), 56.8 (3, 5, 3', 5'-OCH₃), 55.5 (C-8, 8')。以上数据经查阅文献^[25]报道, 鉴定化合物**12**为丁香树脂酚 (syringaresinol)。

化合物**13** 透明油状物, ESI-MS m/z : 359 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.93 (2H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2, 2'), 6.79 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6, 6'), 6.76 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5, 5'), 4.69 (2H, d, $J = 3.9$ Hz, H-7, 7'), 4.24~4.18 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.84 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 3.83~3.80 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.12 (2H, s, H-8, 8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 149.1 (C-3, 3'), 147.3 (C-4, 4'), 133.8 (C-1, 1'), 120.0 (C-6, 6'), 116.1 (C-5, 5'), 111.0 (C-2, 2'), 87.5 (C-7, 7'), 72.6 (C-9, 9'), 56.4 (3, 3'-OCH₃), 55.3 (C-8, 8')。以上数据经查阅文献^[26]报道, 鉴定化合物**13**为松脂素 (pinoresinol)。

化合物**14** 黄色油状物, ESI-MS m/z : 389 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.94 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.80 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-6), 6.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.65 (2H, s, H-2', 6'), 4.70 (2H, d, $J = 4.3$ Hz, H-7, 7'), 4.24 (2H, ddd, $J = 9.0, 6.8, 4.5$ Hz, H-9a, 9'a), 3.87 (2H, dd, $J = 6.6, 3.0$ Hz, H-9b, 9'b), 3.85 (3H, s, 3-OCH₃), 3.84 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.16~3.10 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 149.4 (C-3', 5'), 149.1 (C-3), 147.3 (C-4), 136.2 (C-4'), 133.8 (C-1), 133.2 (C-1'), 120.1 (C-6), 116.1 (C-5), 111.0 (C-2), 104.5 (C-2', 6'), 87.7 (C-7'), 87.5 (C-7), 72.7 (C-9'), 72.6 (C-9), 56.8 (3', 5'-OCH₃), 56.4 (3-OCH₃), 55.6 (C-8'), 55.3 (C-8)。以上数据经查阅文献^[27,28]报道, 鉴定化合物**14**为皮树脂醇 (medioresinol)。

化合物**15** 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 361 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.94 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.82 (1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-6), 6.75 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.72 (2H, s, H-4', 6'), 5.48 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-7), 3.84 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.82 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H-9a), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃), 3.75 (1H, dd, $J = 11.0, 7.2$ Hz, H-9b), 3.56 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-9'), 3.46 (1H, dd, $J = 12.5, 6.3$ Hz, H-8), 2.65~2.59 (2H, m, H-7'), 1.81 (2H, tt, $J = 13.1, 6.5$ Hz, H-8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 149.1 (C-3), 147.5 (C-4), 147.5 (C-2'), 145.2 (C-3'), 136.9 (C-5'), 134.8 (C-1), 129.9 (C-1'), 119.7 (C-6), 117.9 (C-6'), 116.1 (C-5), 114.1 (C-4'), 110.5 (C-2), 89.0 (C-7), 65.0

(C-9), 62.2 (C-9'), 56.7 (3-OCH₃), 56.4 (3'-OCH₃), 55.5 (C-8), 35.8 (C-8'), 32.9 (C-7)。以上数据经查阅文献^[29]报道, 鉴定化合物 **15** 为二氢去氢二愈创木基醇 (dehydroconiferyl alcohol)。

化合物 **16** 黄色油状物, ESI-MS m/z : 333 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₀H₂₈O₄。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.57 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-5), 6.56 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-3), 5.30 (1H, td, J = 7.3, 1.1 Hz, H-2'), 5.10 (1H, ddd, J = 7.0, 4.1, 1.3 Hz, H-6'), 3.69 (3H, s, 4-OCH₃), 3.67 (3H, s, H-9), 3.62 (2H, s, H-7), 3.29 (2H, s, H-1'), 2.12 (2H, dd, J = 14.3, 7.1 Hz, H-5'), 2.08~2.02 (2H, m, H-4'), 1.69 (3H, s, H-10'), 1.65 (3H, s, H-9'), 1.59 (3H, s, H-8'); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 174.7 (C-8), 154.8 (C-4), 147.7 (C-1), 137.7 (C-3'), 132.4 (C-7'), 131.9 (C-6), 125.3 (C-6'), 124.8 (C-2'), 123.5 (C-2), 115.2 (C-5), 114.4 (C-3), 56.0 (4-OCH₃), 52.5 (C-9), 40.9 (C-4'), 37.2 (C-7), 29.4 (C-1'), 27.7 (C-5'), 25.9 (C-9'), 17.8 (C-8'), 16.2 (C-10')。以上数据经查阅文献^[30]报道, 鉴定化合物 **16** 为 4-methoxyl-denudaquinol。

化合物 **17** 黄绿色粉末, ESI-MS m/z : 275 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₂O₃。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 10.82 (2H, s, 2, 5-OH), 9.72 (1H, s, -CHO), 6.91 (1H, s, H-4), 6.77 (1H, s, H-6), 5.23 (1H, t, J = 6.8 Hz, H-2'), 5.04 (1H, t, J = 6.0 Hz, H-6'), 3.28 (2H, d, J = 7.1 Hz, H-1'), 2.09~1.95 (4H, m, H-4', 5'), 1.63 (3H, s, H-10'), 1.62 (3H, s, H-9'), 1.53 (3H, s, H-8'); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 196.3 (-CHO), 154.0 (C-2), 148.2 (C-5), 137.7 (C-3'), 132.0 (C-3), 131.5 (C-7'), 125.3 (C-4), 124.1 (C-6'), 120.7 (C-2'), 119.6 (C-1), 115.2 (C-6), 39.7 (C-4'), 27.0 (C-1'), 26.5 (C-5'), 25.6 (C-9'), 17.7 (C-8'), 16.1 (C-10'), 以上数据经查阅文献^[31]报道, 鉴定化合物 **17** 为 miliusal。

化合物 **18** 白色晶体, ESI-MS m/z : 199 [M+H]⁺, 分子式为 C₉H₁₀O₅。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.32 (2H, s, H-2, 6), 3.87 (6H, s, 3, 5-OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 170.0 (-COOH), 148.8 (C-3,5), 141.7 (C-4), 121.9 (C-1), 108.3 (C-2, 6), 56.8 (3, 5-OCH₃)。以上数据经查阅文献^[32]报道, 鉴定化合物 **18** 为丁香酸 (syngic acid)。

化合物 **19** 黄棕色粉末, ESI-MS m/z : 265 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₀O₄。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.77 (1H, d, J = 16.1 Hz, H-4), 6.23 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-5), 5.91 (1H, s, H-8), 5.74 (1H, s, H-2), 2.52 (1H, d, J = 16.9 Hz, H-10a), 2.17 (1H, d, J = 17.0 Hz, H-10b), 2.03 (3H, d, J = 0.9 Hz, H-15), 1.92 (3H, d, J = 1.2 Hz,

H-14), 1.06 (3H, s, H-12), 1.02 (3H, s, H-13); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 201.0 (C-9), 169.5 (C-1), 166.5 (C-3), 151.1 (C-7), 137.9 (C-5), 129.4 (C-4), 127.6 (C-8), 119.6 (C-2), 80.6 (C-6), 50.7 (C-10), 42.9 (C-11), 24.6 (C-15), 23.6 (C-13), 21.2 (C-14), 19.6 (C-12)。以上数据经查阅文献^[33]报道, 鉴定化合物 **19** 为脱落酸 (abscisic acid)。

化合物 **20** 晶体, ESI-MS m/z : 265 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₈H₁₆O₂。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.73 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3), 7.63~7.59 (2H, m, H-5, 9), 7.45~7.42 (2H, m, H-5', 9'), 7.42~7.39 (3H, m, H-6, 7, 8), 7.32 (2H, dd, J = 10.3, 4.8 Hz, H-6', 8'), 7.26~7.22 (1H, m, H-7'), 6.73 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 6.57 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2), 6.40 (1H, dt, J = 15.9, 6.3 Hz, H-2'), 4.86 (2H, d, J = 1.3 Hz, H-1'); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 168.4 (C-1), 146.5 (C-3), 137.8 (C-4'), 135.8 (C-4), 135.2 (C-3'), 131.6 (C-7), 130.0 (C-6, 8), 129.7 (C-6', 8'), 129.3 (C-5, 9), 129.1 (C-7'), 127.6 (C-5', 9'), 124.5 (C-2'), 118.8 (C-2), 66.2 (C-1')。以上数据经查阅文献^[34,35]报道, 鉴定化合物 **20** 为桂酸桂酯 [(*E*)-cinnamyl-(*E*)-cinnamate]。

3 NMR和ECD谱计算

应用 Gaussian 09 软件在 MMFF94 分子力场中对化合物使用 7 kcal·mol⁻¹ 的能量窗进行构象搜索。应用 Gaussian 09^[36] 程序, 依次在 PM6 和 B3LYP/6-31+G(d) 水平上, 对搜索获得的构象进行优化得到优化构象。在 mPW1PW91/6-311+G(2d,p) 水平上, 用 GIAO 算法 (Gauge-independent atomic orbital)^[37] 和 IEFPCM 模型模拟溶剂效应计算优化构象的 NMR, 再通过加权平均化, 拟合得到理论计算的 ¹H 和 ¹³C NMR 数据, 再经 DP4+ 概率分析, 进行确证。基于含时密度泛函理论 (TD-DFT), 在 B3LYP/6-311G(d,p) 水平上对优化构象进行 ECD 计算。通过重叠高斯函数拟合得到 ECD 谱。

4 体外抗肿瘤活性评价

采用 MTT 法测定化合物抗肿瘤活性, 取对数生长期的人胃癌细胞系 MGC-803, 弃去原培养液, 用 2 mL 磷酸盐缓冲液 PBS 洗涤 2 遍, 用 1 mL 胰酶消化后离心, 弃上清, 之后用 10% 胎牛血清 RPMI-1640 培养基稀释, 以每毫升 5×10⁴ 个接种至 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 弃去孔内上清液, 空白组加入 200 μ L 不含胎牛血清的 RPMI-1640 培养基, 实验组中加入 200 μ L 相应浓度的含药培养基, 每组设置 3 个复孔, 继续培养 48 h。弃去孔内上清液, 每孔加入 100 μ L RPMI-1640 培养基和 20 μ L MTT (5 mg·mL⁻¹), 放入培养箱中继续培养 4 h, 弃去孔内上

清液, 每孔加入 150 μ L DMSO 于摇床上振荡 10 min。用酶标仪 570 nm 波长处测定吸光度 (A) 值, 根据公式计算细胞抑制率, 并用 IBM SPSS Statistics 26 计算细胞的 IC_{50} 值。抑制率 = $1 - A_{\text{实验}}/A_{\text{空白}}$, $A_{\text{实验}}$ 为实验组的吸光度, $A_{\text{空白}}$ 为空白组的吸光度。

作者贡献: 张珊珊负责化合物的分离、结构鉴定及文章的撰写; 韩月对化合物的分离、结构鉴定提供帮助; 侯亚迪和魏雨婕负责化合物的抗肿瘤活性筛选; 孙孝亚对实验中遇到的问题给予指导并负责相关稿件的修改; 陈随清负责实验设计、稿件修改等工作。

利益冲突: 作者声明不存在任何利益冲突。

References

- [1] Li XW. Flora of China: Vol 31 (中国植物志: 第 31 卷) [M]. Beijing: Science Press, 1982: 390.
- [2] Nanjing University of Chinese Medicine. Dictionary of Chinese Crude Drugs (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific Technologic Publisher, 2006: 269.
- [3] Sun XY. Study on Quality Standards of Weitengning Capsule (胃疼宁胶囊的质量标准研究) [D]. Zhengzhou: Henan University of Chinese Medicine, 2015.
- [4] Cai JZ, Lin CL, Zhou ZY, et al. The chemical constituents study of the volatile oils from *Lindera reflexa* Hemsl's roots stems and leaves [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2011, 29: 1893-1895.
- [5] Zhang JZ, Fang QC. Chemical constituents from *Lindera reflexa* Hemsl. [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1994, 25: 565-568, 614.
- [6] Liu WX. Study of Extraction, Isolation and Structure Elucidation of Chemical Constituents in *Lindera reflexa* Hemsl (山柃化学成分及质量标准的研究) [D]. Xianyang: Shanxi University of Chinese Medicine, 2006.
- [7] Lei JW, Chen SQ, Wang SX. Study on the chemical constituents from radix *Linderae reflexae* of *n*-butanol part [J]. Acta Chin Med (中医学报), 2010, 25: 116-117.
- [8] Han Y, Sun XY, Fu YH, et al. New pyrone from the roots of *Lindera reflexa* in Hunan province [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2023, 46: 878-881.
- [9] Chen SQ, Wang LL, Zhang WQ, et al. Secondary metabolites from the root of *Lindera reflexa* Hemsl. [J]. Fitoterapia, 2015, 105: 222-227.
- [10] Fu YH, Sun XY, Chen SQ, et al. Chemical constituents of the antiulcer purified fractions of *Lindera reflexa* Hemsl. and its quantitative analysis [J]. Fitoterapia, 2021, 148: 104795.
- [11] Fu YH, Hou YD, Duan YZ, et al. Six undescribed derivatives of stilbene isolated from *Lindera reflexa* Hemsl. and their anti-tumor and anti-inflammatory activities [J]. Fitoterapia, 2022, 163: 105331.
- [12] Li XJ, Lei JW, Chen SQ. Experiments of *Lindera reflexa* Hemsl. of *Helicobacter pylori* antibacterial [J]. Acta Chin Med (中医学报), 2010, 25: 908, 911.
- [13] Zhan T, Chen SQ, Zhang F, et al. Experimental study on the anti-ulcer and anti-inflammatory components in *Lindera reflexa* [J]. Acta Chin Med (中医学报), 2011, 26: 597-599.
- [14] Ichino K. Two flavonoids from two *Lindera umbellata* varieties [J]. Phytochemistry, 1989, 28: 955-956.
- [15] Yang CS, Jiang HL, Li HY, et al. A unique acyclic sesquiterpene-flavanone adduct and a new cyclic diarylheptanoid from *Alpinia katsumadai* [J]. Phytochem Lett, 2019, 30: 190-193.
- [16] Liu XM, Zhao JM, Lan JH, et al. Chemical constituents from fruits of *Tribulus terrestris* and their antioxidant activity [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 4774-4779.
- [17] Fu ZQ, Huang ZH, Lin J, et al. Chemical constituents in root tuber of *Tetrastigma hemsleyanum* and their anti-oxidative activities [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46: 1583-1588.
- [18] Qian CG, Jin L, Zhu LP, et al. Study on chemical constituents, antitumor and anti-inflammatory activities of *Cinnamomi ramulus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2022, 53: 31-40.
- [19] Zhao R, Li XR, Li L, et al. Chemical constituents from *Carthamus tinctorius* and their inhibitory effects on uterine smooth muscle contraction [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2022, 44: 2171-2176.
- [20] Huang Z, Huang LQ, Zhou XQ, et al. Chemical constituents from the roots of *Pfaffia glomerata* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2021, 43: 3037-3044.
- [21] Peng ZT, Chao LH, Huo HX, et al. Phenylpropanoid amides from whole plants of *Corydalis edulis* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2018, 43: 109-113.
- [22] Wu Y, Zheng CJ, Deng XH, et al. Two new bis-alkaloids from the aerial part of *Piper flaviflorum* [J]. Helv Chim Acta, 2013, 96: 951-955.
- [23] Lee J, Kim NH, Nam JW, et al. Scopoletin from the flower buds of *Magnolia fargesii* inhibits protein glycation, aldose reductase, and cataractogenesis *ex vivo* [J]. Arch Pharm Res, 2010, 33: 1317-1323.
- [24] Zuo L, Li JB, Xu J, et al. Chemical constituents from roots of *Isatis indigotica* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2007, 32: 688-691.
- [25] Si YY, Sun YJ, Xue GM, et al. Chemical constituents from *Cynanchum inamoenum* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2022, 44: 816-820.
- [26] Jiang YP, Liu YF, Guo QL, et al. Lignans from an aqueous extract of the roots of *Codonopsis pilosula* [J]. Acta Pharm Sin (药理学学报), 2016, 51: 616-625.
- [27] Zhang PM, Zhang C, Zeng KW, et al. Lignans and flavonoids from *Artemisia brachyloba* [J]. J Chin Pharm Sci (中国药科学), 2018, 27: 429-435.
- [28] Liu SN, He J, Wang XX, et al. A new lignan from rhizome of

- Stellera chamaejasme* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2018, 43: 1649-1653.
- [29] Luo GY, Lang TQ, Zhou M, et al. Chemical components from *Caryoptesis glutinosa* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2016, 28: 1520-1525.
- [30] Li QY, Wang Y, Wen SS, et al. A new dimeric sesquiterpenoid from *Chloranthus japonicus* Sieb. [J]. Rec Nat Prod, 2019, 13: 483-490.
- [31] Promgool T, Kanokmedhakul K, Tontapha S, et al. Bioactive homogentisic acid derivatives from fruits and flowers of *Milium velutinum* [J]. Fitoterapia, 2019, 134: 65-72.
- [32] Si XY, Wang YF, He RJ, et al. Chemical constituents from leaves of *Castanopsis lamontii* and its tyrosinase inhibitory activities [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 6214-6219.
- [33] Zeng H, Zhou HX, Xie YY, et al. Chemical constituents of *Syzygium jambos* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2022, 44: 812-815.
- [34] Xu SY, Xiao QW, Zhao SM, et al. A new cinnamic acid ester derivative from *Liquidambaris resina* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2023, 48: 4130-4136.
- [35] Lotti C, Piccinelli AL, Arevalo C, et al. Constituents of *Hondurian propolis* with inhibitory effects on *saccharomyces cerevisiae* multidrug resistance protein Pdr5p [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60: 10540-10545.
- [36] Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al. Gaussian 09, Revision D.01 [Z]. Wallingford CT: Gaussian, Inc., 2009.
- [37] Lodewyk M, Siebert M, Tantillo D, et al. Computational prediction of ^1H and ^{13}C chemical shifts: a useful tool for natural product, mechanistic, and synthetic organic chemistry [J]. Chem Rev, 2012, 112: 1839-1862.