

番石榴果实化学成分研究

于悦, 孙兴妍, 徐凯玲, 李创军, 王金华, 张东明*

(北京协和医学院、中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 番石榴果实 95% 乙醇提取物的二氯甲烷和乙酸乙酯萃取部位使用硅胶柱色谱、MCI 柱色谱、中压液相色谱以及制备液相色谱进行系统的分离纯化, 从中分离得到 1 个新的番石榴苷 (**1**), 通过 MS、NMR、IR 等谱学技术确定了其结构, 并命名为番石榴苷 A (**1**)。同时分离得到 3 个已知的混源萜类化合物 (**2~4**) 和 9 个已知的苷类化合物 (**5~13**), 通过 MS、NMR 技术确定了其结构, 鉴定为 guajadial (**2**)、4,5-diepipisial A (**3**)、psidial A (**4**)、白杨素 8-*C*- β -*D*-葡萄糖苷 (**5**)、2,6-二羟基-3,5-二甲基苯甲酮-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (**6**)、槲皮素-3-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (**7**)、槲皮素-3-*O*-木糖苷 (**8**)、番石榴苷 (**9**)、广寄生苷 (**10**)、guavinoside E (**11**)、guavinoside B (**12**)、guajaphenone A (**13**)。通过 CCK-8 比色法测定了化合物 **2~4** 对人乳腺癌细胞 (MDA-MB-231) 和人神经胶质瘤细胞 (U87) 的抑制活性, 发现化合物 **3** 对 U87 细胞具有抑制活性, IC_{50} 值为 $8.379 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词: 番石榴; 果实; 化学成分; 混源萜; 抗肿瘤

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2022)08-2416-07

Study on the chemical constituents of the fruits of *Psidium guajava*

YU Yue, SUN Xing-yan, XU Kai-ling, LI Chuang-jun, WANG Jin-hua, ZHANG Dong-ming*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: *Psidium guajava* Linn. is an evergreen shrub or small tree of *Psidium* Linnaeus in the Myrtaceae family. One new glycoside (**1**) together with 3 known meroterpenoids (**2–4**) and 9 known glycosides (**5–13**) were isolated from the fruits of *Psidium guajava* Linn.. The structure of the new compound was elucidated by the spectroscopic data analysis of HR-ESIMS, 1D- and 2D-NMR, and it was named psiguaoside A (**1**). The known compounds were identified as guajadial (**2**), 4,5-diepipisial A (**3**), psidial A (**4**), chrysin-8-*C*- β -*D*-glucoside (**5**), 2,6-dihydroxy-3,5-dimethyl-4-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-benzophenone (**6**), quercetin-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (**7**), quercetin-3-*O*-xyloside (**8**), guajaverin (**9**), avicularin (**10**), guavinoside E (**11**), guavinoside B (**12**), guajaphenone A (**13**). In the bioactivity assay, compound **3** exhibited significant inhibitory activity of U87 with IC_{50} values of $8.379 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: *Psidium guajava*; fruit; chemical constituent; meroterpenoid; anti-tumor

番石榴 (*Psidium guajava* Linn.) 为桃金娘科番石榴属的常绿灌木或小乔木^[1], 是许多热带和亚热带国家重要的粮食作物和药用植物^[2]。番石榴因富含多种

营养成分而被称为“超级水果”, 比如膳食纤维、维生素 A、维生素 C、叶酸以及微量元素钾、铜、锰等^[2]。除此之外, 也具有广泛的药物价值, 不同的部位有不同的功效。花蕾可缓解消化功能障碍^[3]; 叶及根的汤剂具有退热和解痉作用^[4]; 树皮能用于止血和治疗小儿腹泻^[5]; 果实可以作为营养滋补剂和止泻剂^[6]等。番石榴果实含有类倍半萜烯醇、混源萜、三萜、黄酮以及苷类等多种化学成分^[2]。多样的化学成分为其药理学研究

收稿日期: 2022-03-04; 修回日期: 2022-03-21.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21772234); 中国医学科学院创新工程资助项目 (2021-I2M-1-028); 天然药物生物活性物质与功能国家重点实验室独立课题 (GTZA201803).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165227, E-mail: zhangdm@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0285

提供了坚实的基础。目前的研究现状显示, 番石榴的叶、果实、种子、根等都有进行研究, 其中以叶的研究最为深入, 应用也最为广泛, 而果实研究则相对较少。本研究对番石榴果实的 95% 乙醇提取物的二氯甲烷和乙酸乙酯萃取部位进行了系统研究, 分离得到了 3 个已知的混源萜类化合物 (2~4)、1 个新的萜类化合物 (1) 和 9 个已知的萜类化合物 (5~13), 丰富了番石榴果实的化学成分, 具体结构见图 1。在生物活性研究中, 通过 CCK-8 比色法测定了化合物 2~4 的细胞毒活性, 化合物 3 对 U87 细胞具有抑制活性, IC_{50} 值为 $8.379 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物 1 为棕色油状物。高分辨质谱给出分子离子峰为 443.130 4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{Na}$, 443.131 3), 推断其分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_9$, 计算得出不饱和度为 10。根据 ^1H NMR (表 1)、 ^{13}C NMR (表 1)、DEPT

和 HSQC 谱图所提供的信息, 化合物 1 的结构中含有 6 个羟基 [δ_{H} 12.52 (1H, s), δ_{H} 9.93 (1H, s), δ_{H} 5.61 (1H, d, $J = 4.8$ Hz), δ_{H} 5.09 (1H, d, $J = 3.0$ Hz), δ_{H} 4.97 (1H, d, $J = 4.8$ Hz), δ_{H} 4.34 (1H, t, $J = 4.8$ Hz)]; 1 个醛基 [δ_{H} 10.14 (1H, s), δ_{C} 195.1]; 1 个六取代苯环 [δ_{C} 162.4、159.6、156.8、111.2、110.6 和 109.0]; 1 个单取代苯环 [δ_{H} 7.23 (2H, m), δ_{C} 128.1 \times 2; δ_{H} 7.22 (2H, m), δ_{C} 128.3 \times 2; δ_{H} 7.12 (1H, m), δ_{C} 125.6; δ_{C} 140.6]; 1 个甲基 [δ_{H} 2.14 (3H, s), δ_{C} 9.6]; 2 个亚甲基 [δ_{H} 3.89 (2H, s), δ_{C} 27.5; δ_{H} 3.58 (1H, m), δ_{H} 3.40 (1H, m), δ_{C} 60.9]; 5 个次甲基 [δ_{H} 4.56 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), δ_{C} 105.1; δ_{H} 3.30 (1H, m), δ_{C} 74.0; δ_{H} 3.22 (1H, m), δ_{C} 76.3; δ_{H} 3.15 (1H, m), δ_{C} 69.7; δ_{H} 3.08 (1H, m), δ_{C} 76.9]。通过上述信息可以得出, 化合物 1 中含有 1 个糖类单元。

通过综合解析 ^1H - ^1H COSY 谱 (H-1''/H-2''/H-3''/H-4''/H-5''/H-6'', 2''-OH/H-2'', 3''-OH/H-3'', 4''-OH/H-4'', 6''-OH/H-6'', 图 2) 和 HMBC 谱 (H-5'' 与 C-1'' 相关, 图 2) 所提供的信息确定了化合物 1 中糖单元的结构。然

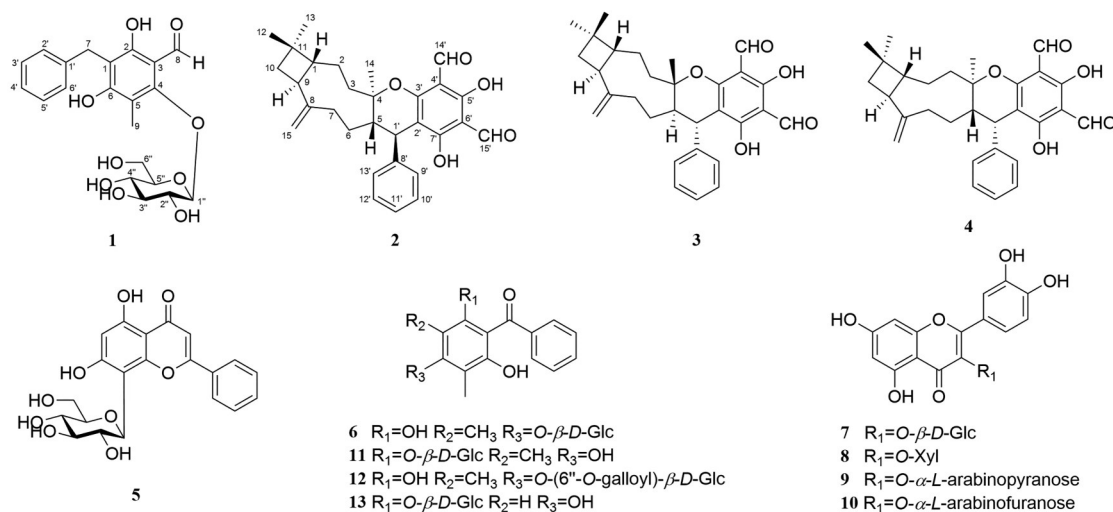


Figure 1 Structures of compounds 1-13

Table 1 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) and ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spectral data of compound 1

No.	δ_{H}	δ_{C}	No.	δ_{H}	δ_{C}
1	-	111.2	1'	-	140.6
2	-	159.6	2'/6'	7.22 (m, 2H)	128.3
3	-	109.0	3'/5'	7.23 (m, 2H)	128.1
4	-	156.8	4'	7.12 (m, 1H)	125.6
5	-	110.6	1''	4.56 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H)	105.1
6	-	162.4	2''	3.30 (m, 1H)	74.0
7	3.89 (s, 2H)	27.5	3''	3.22 (m, 1H)	76.3
8	10.14 (s, 1H)	195.1	4''	3.15 (m, 1H)	69.7
9	2.14 (s, 3H)	9.6	5''	3.08 (m, 1H)	76.9
2-OH	12.52 (s, 1H)	-	6''	3.40 (m, 1H)	60.9
6-OH	9.93 (s, 1H)	-		3.58 (m, 1H)	
2''-OH	5.61 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H)	-	4''-OH	4.97 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H)	-
3''-OH	5.09 (d, $J = 3.0$ Hz, 1H)	-	6''-OH	4.34 (t, $J = 4.8$ Hz, 1H)	-

后,在HMBC谱中,观察到H-7与C-1、C-2、C-6、C-1'、C-2'和C-6'位的相关信息,表明单取代苯环与六取代苯环通过C-1-C-7-C-1'键相互连接构成一个二苯基甲烷。而2-OH与C-1、C-2和C-3相关,6-OH与C-1、C-5和C-6相关,H-8与C-2相关,H-9与C-4、C-5和C-6相关以及H-1"与C-4位的相关信息则阐明了六取代苯环上各取代基的连接位置,糖单元通过氧苷键与二苯基甲烷的C-4位相连。化合物**1**中糖的端基碳(C-1")的核磁数据为 $[\delta_{\text{H}} 4.56 (1\text{H}, \text{d}, J = 7.8 \text{ Hz}), \delta_{\text{C}} 105.1]$,据此,推断化合物**1**中的糖单元为 β -D-葡萄糖^[7]。化合物**1**与2,6-dihydroxy-3-formaldehyde-5-methyl-4-O-(6"-O-galloyl- β -D-glucopyranosyl)-diphenylmethane^[8]相比,两者差异在于化合物**1**的C-6"位羟基氢未被没食子酰基取代,对两者所含糖单元的碳氢化学位移,端基氢的耦合常数以及旋光值进行仔细对比,最终确定化合物**1**中的糖单元为 β -D-葡萄糖,确定为新化合物,并命名为番石榴苷A (psiguaoside A)。

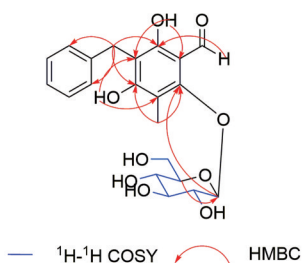


Figure 2 Key HMBC spectra of compound **1**

2 抗肿瘤活性

采用CCK-8比色法测定了化合物**2**~**4**在 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对人乳腺癌细胞(MDA-MB-231)和人神经胶质瘤细胞(U87)的抑制活性。化合物**3**对U87细胞具有较高的抑制率(55.5%),复筛后计算 IC_{50} 值为 $8.379 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

实验部分

Thermo Q Exactive Focus 组合型四级杆Orbitrap质谱仪; Bruker AVANCE-III HD 600 MHz核磁共振波谱仪; 中科牛津WNMR-I 500 MHz核磁共振波谱仪; Bruker AVANCE-III HD 400 MHz核磁共振波谱仪; JASCO J-815型圆二色光谱仪; Buchi Rotavapor R-300旋转蒸发仪; JASCO V-650型紫外光谱仪; Thermo Nicolet 5700型傅立叶变换红外光谱仪; Agilent 1100型高效液相色谱仪(HPLC)(DAD紫外吸收检测器); Buchi C-600中压液相相色谱仪(MPLC); Shimadzu LC-16P双波长制备液相色谱仪; 硅胶柱色谱填料(100~200目, 200~300目, 青岛海洋化工有限公司); MCI柱色谱填料(CHP120, 日本三菱化学公司); ODS半制备

型色谱柱(日本YMC公司); Lux-cellulose-4半制备型色谱柱(美国Phenomenex公司); 色谱甲醇、乙腈及氘代试剂(百灵威科技有限公司); 分析纯试剂(北京化工); 实验用水(娃哈哈集团有限公司)。

新鲜番石榴果实于2019年7月购买自广西省玉林市,经北京协和医学院&中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定为番石榴果实,干燥标本保存在中国医学科学院药物研究所标本室(ID-S-2976)。

1 提取分离

新鲜番石榴果实(60 kg)自然晒干(28.3 kg),使用95%乙醇回流提取(140 L, $2\times 2 \text{ h}$),合并提取液并减压浓缩后获得11.3 kg浸膏。将浸膏混悬于水中并依次使用二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取获得4部分粗提物。根据粗提物的薄层色谱和HPLC的分析结果,将二氯甲烷萃取部位(35.1 g)和乙酸乙酯萃取部位(130.2 g)进行合并,合并部位使用硅胶柱色谱经石油醚:乙酸乙酯=2:1(v/v)、乙酸乙酯和甲醇梯度洗脱获得石油醚:乙酸乙酯=2:1部位(14.0 g)、乙酸乙酯部位(15.2 g)和甲醇部位(110.0 g)。石油醚:乙酸乙酯=2:1部位使用硅胶柱色谱经石油醚-二氯甲烷-乙酸乙酯(5:1:0-1:1:0-0:1:0-0:50:1-0:10:1, v/v/v)体系梯度洗脱获得29个流分(A1~A29),A5~A11合并后经MPLC(ODS- C_{18} , 80%~100%甲醇, 5 h, 100%甲醇, 2.5 h)进一步分离获得24个流分(A5-11-1~A5-11-24)。A5-11-13经制备液相分离(ODS- C_{18} , 95%乙腈)获得化合物**2**(23 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 42 \text{ min}$)和化合物**3**(8 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 37 \text{ min}$); A5-11-14~A5-11-15合并后经制备液相分离(ODS- C_{18} , 97%乙腈)并进一步纯化(Lux cellulose-4, 85%乙腈)后获得化合物**4**(2 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 96 \text{ min}$); 甲醇部位使用MCI柱色谱经95%乙醇-水体系(1:4-2:3-3:2-4:1-1:0, v/v)梯度洗脱获得5个流分(B1~B5), B2~B4合并后经MPLC(ODS- C_{18} , 30%、40%、45%、50%、55%、75%、100%甲醇, 每个梯度4 L)进一步分离获得60个流分(B2-4-1~B2-4-60), B2-4-22~B2-4-23合并后经制备液相分离(ODS- C_{18} , 20%乙腈, 三氟乙酸)获得化合物**5**(2 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 46 \text{ min}$)和化合物**6**(5 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 77 \text{ min}$); B2-4-24~B2-4-26合并后经制备液相分离(ODS- C_{18} , 17%乙腈)获得化合物**7**(2 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 55 \text{ min}$)和化合物**8**(3 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 68 \text{ min}$); B2-4-27~B2-4-29合并后经制备液相分离(ODS- C_{18} , 21%乙腈, 三氟乙酸)获得化合物**9**(3 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 17 \text{ min}$), 化合物**10**(3 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 19 \text{ min}$), 化合物**11**(3 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 35 \text{ min}$), 化合物**12**(8 mg, $4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_{\text{R}} = 63 \text{ min}$)和化合物**13**(52 mg,

4 mL·min⁻¹, t_R = 48 min); B2-4-43~B2-4-46 合并后经制备液相分离 (ODS-C₁₈, 32% 乙腈, 三氟乙酸) 获得化合物 **1** (0.5 mg, 4 mL·min⁻¹, t_R = 19 min)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 为棕色油状物, HR-ESIMS [M+Na]⁺ m/z = 443.130 4 (计算值 443.131 3, C₂₁H₂₄O₉Na); 旋光值为 $[\alpha]_D^{20}$ -7.0 (c 0.071, CH₃OH); UV (CH₃OH) λ_{max} (log ϵ) 204 (4.26), 226 (4.08), 290 (3.92) nm; IR ν_{max} 3 344, 2 927, 2 854, 1 682, 1 628, 1 095 cm⁻¹; ¹H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) 和 ¹³C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。

化合物 **2** 为白色粉末, HR-ESIMS [M+H]⁺ m/z = 475.247 7 (计算值 475.247 9, C₃₀H₃₅O₅), 分子式为 C₃₀H₃₄O₅。 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H : 1.89 (1H, m, H-1); 1.45 (1H, m, H-2a), 1.89 (1H, m, H-2b); 1.89 (1H, m, H-3a), 2.16 (1H, m, H-3b); 2.23 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-5); 1.56 (2H, m, H-6); 1.67 (1H, m, H-7a), 1.89 (1H, m, H-7b); 2.33 (1H, q, J = 9.0 Hz, H-9); 1.56 (1H, m, H-10a), 1.97 (1H, m, H-10b); 1.01 (3H, s, H-12); 0.98 (3H, s, H-13); 1.26 (3H, s, H-14); 4.04 (1H, s, H-15a), 4.54 (1H, s, H-15b); 3.38 (1H, d, J = 10.3 Hz, H-1'); 7.18 (5H, m, H-9'/10'/11'/12'/13'); 10.09 (1H, s, H-14'); 10.06 (1H, s, H-15'); 13.43 (1H, s, 5-OH); 13.05 (1H, s, 7-OH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ_C : 53.3 (C-1); 22.2 (C-2); 37.1 (C-3); 84.3 (C-4); 43.4 (C-5); 30.4 (C-6); 35.4 (C-7); 150.7 (C-8); 41.3 (C-9); 36.7 (C-10); 33.8 (C-11); 30.4 (C-12); 22.0 (C-13); 21.2 (C-14); 110.2 (C-15); 43.4 (C-1'); 105.5 (C-2'); 163.4 (C-3'); 104.2 (C-4'); 168.3 (C-5'); 104.3 (C-6'); 169.5 (C-7'); 143.7 (C-8'); 128.7 (C-9'/13'); 127.9 (C-10'/12'); 126.2 (C-11'); 192.1 (C-14'); 191.5 (C-15')。以上数据与文献^[9]中报道的 guajadial 基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 guajadial。

化合物 **3** 为白色粉末, HR-ESIMS [M+H]⁺ m/z = 475.247 5 (计算值 475.247 9, C₃₀H₃₅O₅), 分子式为 C₃₀H₃₄O₅。 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H : 1.55 (1H, m, H-1); 1.55 (2H, m, H-2); 1.80 (1H, m, H-3a), 2.15 (1H, m, H-3b); 2.30 (1H, dt, J = 10.1, 4.9 Hz, H-5); 1.47 (1H, m, H-6a), 1.69 (1H, m, H-6b); 1.06 (1H, m, H-7a), 2.04 (1H, m, H-7b); 2.21 (1H, m, H-9); 1.55 (1H, m, H-10a), 1.64 (1H, dd, J = 10.6, 8.1 Hz, H-10b); 0.99 (3H, s, H-12); 0.99 (3H, s, H-13); 1.20 (3H, s, H-14); 4.59 (1H, s, H-15a), 4.60 (1H, s, H-15b); 3.42 (1H, d, J = 10.2 Hz, H-1'); 7.19 (3H, m, H-9'/13'/11'); 7.28 (2H, m, H-10'/12'); 10.08 (1H, s, H-14'); 10.08 (1H, s, H-15'); 13.47 (1H, s, 5'-OH); 13.08 (1H, s, 7'-OH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ_C : 57.4 (C-1); 22.4 (C-2); 38.3 (C-3); 84.7 (C-

4); 43.8 (C-5); 33.6 (C-6); 37.2 (C-7); 154.9 (C-8); 42.2 (C-9); 38.7 (C-10); 33.2 (C-11); 29.2 (C-12); 22.4 (C-13); 20.1 (C-14); 109.6 (C-15); 44.3 (C-1'); 105.0 (C-2'); 163.6 (C-3'); 104.2 (C-4'); 168.4 (C-5'); 104.2 (C-6'); 169.4 (C-7'); 144.1 (C-8'); 128.1 (C-9'/13'); 128.4 (C-10'/12'); 126.4 (C-11'); 192.2 (C-14'); 191.5 (C-15')。以上数据与文献^[10]中报道的 4,5-diepipidial A 基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 4,5-diepipidial A。

化合物 **4** 为白色粉末, HR-ESIMS [M+H]⁺ m/z = 475.247 9 (计算值 475.247 9, C₃₀H₃₅O₅), 分子式为 C₃₀H₃₄O₅。 ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H : 1.38 (1H, m, H-1); 0.87 (1H, m, H-2a), 1.60 (1H, m, H-2b); 1.53 (1H, m, H-3a), 2.11 (1H, dd, J = 13.8, 9.4 Hz, H-3b); 2.06 (1H, m, H-5); 1.60 (1H, m, H-6a), 1.79 (1H, t, J = 10.4 Hz, H-6b); 2.25 (1H, d, J = 13.7 Hz, H-7a), 2.58 (1H, td, J = 13.6, 3.3 Hz, H-7b); 2.43 (1H, q, J = 9.4 Hz, H-9); 1.60 (2H, m, H-10); 0.96 (3H, s, H-12); 0.98 (3H, s, H-13); 1.17 (3H, s, H-14); 5.01 (1H, s, H-15a), 5.03 (1H, s, H-15b); 4.18 (1H, d, J = 5.6 Hz, H-1'); 7.15 (2H, d, J = 7.1 Hz, H-9'/13'), 7.24 (3H, m, H-10'/12'/11'); 10.14 (1H, s, H-14'); 10.11 (1H, s, H-15'); 13.05 (1H, s, 5'-OH); 13.43 (1H, s, 7'-OH); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_C : 59.3 (C-1); 23.9 (C-2); 47.9 (C-3); 88.1 (C-4); 39.7 (C-5); 36.1 (C-6); 35.5 (C-7); 150.8 (C-8); 42.2 (C-9); 24.4 (C-10); 34.7 (C-11); 29.7 (C-12); 21.7 (C-13); 22.2 (C-14); 111.2 (C-15); 35.0 (C-1'); 107.5 (C-2'); 164.1 (C-3'); 104.7 (C-4'); 167.5 (C-5'); 104.2 (C-6'); 168.5 (C-7'); 138.6 (C-8'); 129.9 (C-9'/13'); 128.0 (C-10'/12'); 127.0 (C-11'); 192.0 (C-14'); 191.6 (C-15')。以上数据与文献^[11]中报道的 psidial A 基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为 psidial A。

化合物 **5** 为黄色针状物, HR-ESIMS [M+H]⁺ m/z = 417.117 6 (计算值 417.118 0, C₂₁H₂₁O₉), 分子式为 C₂₁H₂₀O₉。 ¹H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 6.99 (1H, s, H-3); 6.32 (1H, s, H-6); 8.19 (2H, d, J = 7.8 Hz, H-2'/6'); 7.55 (2H, t, J = 8.2 Hz, H-3'/5'); 7.63 (1H, t, J = 6.8 Hz, H-4'); 4.69 (1H, m, H-1''); 3.84 (1H, m, H-2''); 3.25 (2H, m, H-3''/5''); 3.40 (1H, m, H-4''); 3.56 (1H, m, H-6''a), 3.77 (1H, m, H-6''b); 13.03 (1H, s, 5-OH); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 163.3 (C-2); 104.6 (C-3); 182.1 (C-4); 160.3 (C-5); 98.2 (C-6); 162.8 (C-7); 104.7 (C-8); 156.0 (C-9); 104.2 (C-10); 130.9 (C-1'); 126.8 (C-2'/6'); 128.9 (C-3'/5'); 131.9 (C-4'); 73.2 (C-1''); 70.7 (C-2''); 78.5 (C-3''); 70.4 (C-4''); 81.8 (C-5''); 61.2 (C-6'')。以上数据与文献^[12]中报道的 chrysin-8-C- β -D-glucoside 基本一致,

故鉴定化合物**5**为白杨素-8-*C*- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物**6**为黄色粉末, HR-ESIMS $[M+H]^+$ $m/z = 421.149\ 1$ (计算值 421.149 3, $C_{21}H_{25}O_9$), 分子式为 $C_{21}H_{24}O_9$ 。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 2.09 (6H, s, H-8/9); 7.69 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2'/6'); 7.48 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-3'/5'); 7.58 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-4'); 4.54 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''); 3.29 (1H, m, H-2''); 3.24 (1H, m, H-3''); 3.15 (1H, m, H-4''); 3.06 (1H, m, H-5''); 3.44 (1H, m, H-6''a), 3.63 (1H, m, H-6''b); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 113.0 (C-1); 151.9 (C-2); 110.9 (C-3); 156.0 (C-4); 110.9 (C-5); 151.9 (C-6); 196.8 (C-7); 9.9 (C-8); 9.9 (C-9); 138.8 (C-1'); 128.7 (C-2'/6'); 128.2 (C-3'/5'); 132.3 (C-4'); 104.1 (C-1''); 74.1 (C-2''); 76.3 (C-3''); 69.8 (C-4''); 76.7 (C-5''); 61.0 (C-6'')。以上数据与文献^[13]中报道的 2,6-dihydroxy-3,5-dimethyl-4-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-benzophenone 基本一致, 故鉴定化合物**6**为 2,6-二羟基-3,5-二甲苯甲酮-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物**7**为黄色粉末, HR-ESIMS $[M+H]^+$ $m/z = 465.102\ 8$ (计算值 465.102 8, $C_{21}H_{21}O_{12}$), 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$ 。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 6.40 (1H, s, H-6); 6.20 (1H, s, H-8); 7.57 (1H, s, H-2'); 7.57 (1H, m, H-5'); 6.84 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'); 5.46 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-1''); 12.64 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 156.0 (C-2); 133.2 (C-3); 177.3 (C-4); 161.1 (C-5); 98.5 (C-6); 164.0 (C-7); 93.4 (C-8); 156.2 (C-9); 103.9 (C-10); 121.0 (C-1'); 115.1 (C-2'); 144.7 (C-3'); 148.3 (C-4'); 121.5 (C-5'); 116.1 (C-6'); 100.7 (C-1''); 74.0 (C-2''); 76.4 (C-3''); 69.8 (C-4''); 77.5 (C-5''); 60.9 (C-6'')。以上数据与文献^[14]中报道的槲皮素-3-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷基本一致, 故鉴定化合物**7**为槲皮素-3-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物**8**为黄色针状物, HR-ESIMS $[M+H]^+$ $m/z = 435.092\ 1$ (计算值 435.092 2, $C_{20}H_{19}O_{11}$), 分子式为 $C_{20}H_{18}O_{11}$ 。 ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 156.2 (C-2); 133.2 (C-3); 177.3 (C-4); 161.2 (C-5); 98.7 (C-6); 164.2 (C-7); 93.5 (C-8); 156.3 (C-9); 103.9 (C-10); 120.9 (C-1'); 115.3 (C-2'); 144.9 (C-3'); 148.6 (C-4'); 116.1 (C-5'); 121.4 (C-6'); 101.7 (C-1''); 73.6 (C-2''); 76.0 (C-3''); 69.4 (C-4''); 66.0 (C-5'')。以上数据与文献^[15]中报道的 quercetin 3-*O*-xyloside 基本一致, 故鉴定化合物**8**为槲皮素-3-*O*-木糖苷。

化合物**9**为黄色针状物, HR-ESIMS $[M+H]^+$ $m/z = 435.092\ 3$ (计算值 435.092 2, $C_{20}H_{19}O_{11}$), 分子式为 $C_{20}H_{18}O_{11}$ 。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 6.40 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8); 6.20 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6); 7.51

(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'); 6.84 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'); 7.66 (1H, dd, $J = 2.0, 8.7$ Hz, H-6'); 5.28 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-1''); 12.65 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 156.2 (C-2); 133.6 (C-3); 177.4 (C-4); 161.1 (C-5); 98.5 (C-6); 164.0 (C-7); 93.4 (C-8); 156.2 (C-9); 103.8 (C-10); 120.8 (C-1'); 115.2 (C-2'); 144.9 (C-3'); 148.5 (C-4'); 115.6 (C-5'); 122.0 (C-6'); 101.3 (C-1''); 70.6 (C-2''); 71.7 (C-3''); 65.9 (C-4''); 64.1 (C-5'')。以上数据与文献^[16]中报道的番石榴苷基本一致, 鉴定化合物**9**为番石榴苷 (guaijaverin)。

化合物**10**为黄褐色粉末, HR-ESIMS $[M+H]^+$ $m/z = 435.092\ 3$ (计算值 435.092 2, $C_{20}H_{19}O_{11}$), 分子式为 $C_{20}H_{18}O_{11}$ 。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 6.21 (1H, s, H-6); 6.41 (1H, s, H-8); 7.48 (1H, s, H-2'); 6.85 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'); 7.55 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6'); 5.59 (1H, m, H-1''); 12.63 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 156.8 (C-2); 133.3 (C-3); 177.6 (C-4); 161.1 (C-5); 98.5 (C-6); 164.1 (C-7); 93.4 (C-8); 156.2 (C-9); 103.8 (C-10); 120.8 (C-1'); 115.4 (C-2'); 145.0 (C-3'); 148.3 (C-4'); 115.4 (C-5'); 121.6 (C-6'); 107.7 (C-1''); 82.0 (C-2''); 76.8 (C-3''); 85.7 (C-4''); 60.5 (C-5'')。以上数据与文献^[17]中报道的广寄生苷基本一致, 故鉴定化合物**10**为广寄生苷。

化合物**11**为黄色粉末, HR-ESIMS $[M+Na]^+$ $m/z = 443.131\ 0$ (计算值 443.131 3, $C_{21}H_{24}O_9Na$), 分子式为 $C_{21}H_{24}O_9$ 。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 2.09 (3H, s, H-8); 2.04 (3H, s, H-9); 7.57 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-2'/6'); 7.40 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-3'/5'); 7.51 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-4'); 4.18 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''); 3.32 (1H, m, H-2''); 3.00 (1H, m, H-3''); 2.85 (1H, m, H-4''); 3.50 (2H, m, H-6''); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ_C : 113.5 (C-1); 153.9 (C-2); 108.3 (C-3); 157.5 (C-4); 109.9 (C-5); 151.1 (C-6); 198.4 (C-7); 9.2 (C-8); 8.8 (C-9); 131.4 (C-1'); 127.5 (C-2'/6'); 128.9 (C-3'/5'); 140.5 (C-4'); 103.6 (C-1''); 73.3 (C-2''); 76.3 (C-3''); 69.8 (C-4''); 76.0 (C-5''); 61.3 (C-6'')。以上数据与文献^[18]中报道的 guavinoside E 基本一致, 故鉴定化合物**11**为 guavinoside E。

化合物**12**为褐色粉末, HR-ESIMS $[M+H]^+$ $m/z = 573.160\ 6$ (计算值 573.160 3, $C_{28}H_{29}O_{13}$), 分子式为 $C_{28}H_{28}O_{13}$ 。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 2.04 (6H, s, H-8/9); 7.66 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2'/6'); 7.46 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-3'/5'); 7.57 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-4'); 4.63 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''); 3.36 (1H, m, H-2''); 3.31 (1H, m, H-3''); 3.42 (1H, m, H-4''); 3.42 (1H, m, H-5''); 4.24 (1H, d, $J = 10.6$ Hz, H-6''a); 4.33 (1H, d, $J = 11.9$ Hz, H-

6''b); 6.97 (2H, s, H-2''/6''); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_c : 113.0 (C-1); 151.9 (C-2); 110.9 (C-3); 155.7 (C-4); 110.9 (C-5); 151.9 (C-6); 196.8 (C-7); 9.7 (C-8); 9.7 (C-9); 138.7 (C-1'); 128.7 (C-2'/6'); 128.2 (C-3'/5'); 132.3 (C-4'); 104.0 (C-1''); 74.1 (C-2''); 76.0 (C-3''); 69.1 (C-4''); 73.3 (C-5''); 62.5 (C-6''); 119.4 (C-1'''); 108.5 (C-2'''/6'''); 145.4 (C-3'''/5'''); 138.3 (C-4'''); 165.7 (C-7'''). 以上数据与文献^[19]中报道的 guavinoside B 基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为 guavinoside B。

化合物 **13** 为黄褐色粉末, HR-ESIMS $[\text{M}+\text{H}]^+$ $m/z = 407.1335$ (计算值 407.1337, $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_9$), 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_9$ 。 ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ_H : 6.27 (1H, s, H-5); 1.95 (3H, s, H-8); 7.61 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, H-2'/6'); 7.41 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-3'/5'); 7.52 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-4'); 4.67 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''); 2.53 (1H, m, H-2''); 3.12 (1H, m, H-3''); 3.01 (1H, m, H-4''); 3.12 (1H, m, H-5''); 3.48 (1H, dd, $J = 11.7, 4.9$ Hz, H-6''a), 3.65 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-5''); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_c : 107.4 (C-1); 158.0 (C-2); 104.5 (C-3); 160.1 (C-4); 94.1 (C-5); 155.3 (C-6); 197.1 (C-7); 7.9 (C-8); 140.1 (C-1'); 128.5 (C-2'/6'); 127.7 (C-3'/5'); 131.4 (C-4'); 100.0 (C-1''); 72.8 (C-2''); 76.4 (C-3''); 69.1 (C-4''); 76.9 (C-5''); 60.5 (C-6'')。以上数据与文献^[20]中报道的 guajaphenone A 基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为 guajaphenone A。

文中化合物核磁数据在不同机器上进行测定, 所以 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 的兆赫数有所差异。

3 细胞毒活性测试实验

利用 CCK-8 比色法测定化合物 **2~4** 对人乳腺癌细胞 (MDA-MB-231) 和人神经胶质瘤细胞 (U87) 的抑制率, 5-氟尿嘧啶为阳性对照药。简要实验过程如下: 选用对数生长期细胞, 胰酶消化后用含 10% 胎牛血清 DMED 培养液接种在 96 孔培养板中, 每孔细胞密度为每 100 μL 3 000 个。在 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养 24 h 后, 弃去培养基, 然后加入不含血清的培养基饥饿培养 24 h。测试前换液, 加入 190 μL 新鲜培养基。实验组加入初筛浓度的样品 10 μL (化合物浓度 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, DMSO 溶解), 对照组则加入等体积溶剂的培养液。两组在 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 条件下培养 3 天后, 弃去培养基, 在每孔加入 100 μL 含 10% CCK-8 的无血清培养基, 然后将培养板在培养箱内孵育 4 h, 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度, 根据公式 [肿瘤细胞生长抑制率 (%) = $(A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$] 计算抑制率。对抑制率较好的化合物进行复筛, 使用 GraphPad prism 9.0 计算 IC_{50} 值, 复筛浓度设置为 100、30、10、3、1、0.3、0.1、0.03、0.01 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。最终结果显示, 化合物 **3** 对 U87

细胞具有抑制活性 (图 3), 抑制率为 55.5%, IC_{50} 值为 8.379 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

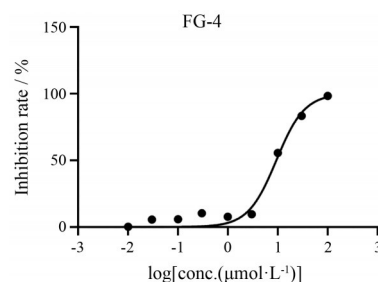


Figure 3 IC_{50} calculation of compound **3**

作者贡献: 于悦是本文第一作者, 负责化合物的分离、鉴定和文章撰写; 孙兴妍、徐凯玲、李创军对提取分离和结构鉴定提供了一定帮助; 王金华负责对化合物的细胞毒活性进行筛选; 张东明为本文通讯作者。

利益冲突: 本文不存在任何利益冲突。

References

- [1] Chen J, Lyn AC. Flora of China: Myrtaceae [M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2007: 331.
- [2] Shruthi SD, Roshan A, Timilsina SS, et al. A review on the medicinal plant *Psidium guajava* Linn. (myrtaceae) [J]. J Drug Deliv Ther, 2013, 3: 162-168.
- [3] Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, et al. Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2002, 97: 1027-1031.
- [4] Perry ML. Medicinal Plants of East and South East Asia [M]. Cambridge: MIT Press, 1980: 284-285.
- [5] Heinrich M, Ankli A, Frei B, et al. Medicinal plants in mexico healers' consensus and cultural importance [J]. Soc Sci Med, 1998, 47: 1859-1871.
- [6] Krishnamurthi A. The Wealth of India [M]. Vol. 8. New Delhi: Publication and Information Directorate, 1969: 285-293.
- [7] Agrawal PK. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides [J]. Phytochemistry, 1992, 31: 3307-3330.
- [8] Shu JC, Chou GX, Wang ZT. One new diphenylmethane glycoside from the leaves of *Psidium guajava* L. [J]. Nat Prod Res, 2012, 26: 1971-1975.
- [9] Yang XL, Hsieh KL, Liu JK. Guajadial: an unusual meroterpenoid from guava leaves *Psidium guajava* [J]. Org Lett, 2007, 9: 5135-5138.
- [10] Reng SL, Wu M, Xu LL, et al. Study on the chemical constituents from *Psidium guajava* leaves and antitumor activity of psiguajadial D [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31: 1001-1005.

- [11] Fu HZ, Luo YM, Li CJ, et al. Psidials A-C, three unusual meroterpenoids from the leaves of *Psidium guajava* L. [J]. Org Lett, 2010, 12: 656-659.
- [12] Zhang YY, Guo YZ, Ageta H, et al. A new flavone C-glycoside from *Scutellaria baicalensis* [J]. J Chin Pharm Sci, 1997, 6: 182-186.
- [13] Shu JC, Chou GX, Wang ZT. Two new benzophenone glycosides from the fruit of *Psidium guajava* L. [J]. Fitoterapia, 2010, 81: 532-535.
- [14] Zhou ZH, Yang CR. Chemical constituents of crude green tea, the material of Pu-er tea in Yunnan [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 2000, 22: 343-350.
- [15] Seto T, Yasuda I, Akiyama K. Purgative activity and principals of the fruits of *Rosa multiflora* and *R. wichuraiana* [J]. Chem Pharm Bull, 1992, 40: 2080-2082.
- [16] Ou YW, Zhu XA, Shao XH, et al. Chemical constituents from ethyl acetate of extract of *Psidium guajava* Linn. leaves [J]. Food Sci (食品科学), 2014, 35: 30-37.
- [17] Xie XQ, Wu P, Lin LD, et al. Identification of chemical constituents from *Polygonum chinense* Linn. [J]. J Trop Subtrop Bot (热带亚热带植物学报), 2007, 15: 450-454.
- [18] Feng XH, Wang ZH, Meng DL, et al. Cytotoxic and antioxidant constituents from the leaves of *Psidium guajava* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2015, 25: 2193-2198.
- [19] Matsuzaki K, Ishii R, Kobiyama K, et al. New benzophenone and quercetin galloyl glycosides from *Psidium guajava* L. [J]. J Nat Med, 2010, 64: 252-256.
- [20] Ukwueze SE, Osadebe PO, Okoye FBC. A new antibacterial benzophenone glycoside from *Psidium guajava* (Linn.) leaves [J]. Nat Prod Res, 2015, 29: 1728-1734.