

• 实验研究 •

西印度醋栗果实的化学成分及其药理活性研究

李红波¹, 舒腾云¹, 杨田融¹, 杨蔚农², 苏丽花¹, 许敏^{1*}

(1. 昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500; 2. 云南新兴绿化工程有限公司, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 研究西双版纳西印度醋栗(*Phyllanthus acidus*)果实的化学成分及其抗乙肝病毒(HBV)活性和胰脂肪酶抑制活性。**方法** 综合运用大孔吸附树脂、Silica gel、Sephadex LH-20 与半制备 HPLC 等多种色谱分离技术对西印度醋栗果实中的化学成分进行分离纯化, 通过 HRESIMS、IR、1D 和 2D NMR、ECD 计算等现代波谱学方法进行结构鉴定。此外, 分别使用 HepG2.2.15 细胞系与猪胰脂肪酶评估所得化合物的抗乙肝病毒(HBV)活性与脂肪酶抑制活性。**结果** 从西印度醋栗果实中分离得到 13 个化合物, 包括 1 个新的没药烷型倍半萜(**1**)。其余化合物 **2-4** 为降没药烷型倍半萜, 化合物 **5** 为杜松烷型倍半萜, 化合物 **6-8** 为黄酮类化合物, 化合物 **9** 为二萜, 化合物 **10** 为生物碱, 化合物 **11-13** 为木脂素衍生物。活性测试结果显示, 上述化合物均未表现出明显地抗 HBV 活性(30 μM)和胰脂肪酶抑制活性(200 μM)。**结论** 本研究得到的化合物均首次从西印度醋栗果实中分离得到, 并且化合物 **1** 为新的没药烷型倍半萜。并评估了所有化合物的抗 HBV 活性及胰脂肪酶抑制活性, 为该植物资源进一步的开发与利用提供参考和科学依据。

关键词: 西印度醋栗果实; 化学成分; 倍半萜; 乙肝病毒; 胰脂肪酶

中图分类号: R284.1; R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2024)06-0051-11

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2024.06.011

Chemical Constituents from Fruits of *Phyllanthus acidus* and their Pharmacological Activities

LI Hongbo¹, SHU Tengyun¹, YANG Tianrong¹, YANG Weinong², SU Lihua¹, XU Min¹

(1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Xinxing Greening Engineering Co. Ltd, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the chemical constituents from the fruits of *Phyllanthus acidus*, and their anti-hepatitis B virus (HBV) activities and pancreatic lipase inhibitory activities. **Methods** The chemical constituents isolated from the fruits of *Phyllanthus* by chromatographic separation techniques, including macroporous adsorption resin, MCI, Silica gel, Sephadex LH-20, and semi-preparative HPLC. The structures of the compounds were identified by HRESIMS, IR, 1D and 2D NMR, and ECD calculations. Additionally, the anti-HBV activities and the pancreatic lipase inhibitory activities of the obtained compounds were tested using the HepG2.2.15 cells and porcine pancreatic lipase, respectively. **Results** Thirteen compounds were isolated from the fruits of *Phyllanthus acidus*, including one novel norbisabolane sesquiterpenoid (**1**). The remaining compounds were identified as norbisabolane sesquiterpenoids (**2-4**), a cadinane sesquiterpene (**5**), flavonoids (**6-8**), a diterpene (**9**), an alkaloid (**10**), and lignan derivatives (**11-13**). The results of activity test showed that no obvious anti-HBV activity (at 30 μM) and pancreatic lipase inhibition activity (at 200 μM). **Conclusion** All the compounds were obtained from the fruits of *Phyllanthus acidus* for the first time, and compound **1** was identified as a new norbisabolane sesquiterpenoid. The anti-HBV activities and pancreatic lipase inhibitory activities of all compounds were tested, which provided a reference and scientific basis for the further development and utilization of this plant resource.

KEY WORDS: *Phyllanthus acidus* fruits; chemical constituents; sesquiterpene; anti HBV activity; pancreatic lipase

基金项目: 云南省创新研究团队项目; Ronald J Q A M 院士工作站(2019IC003)

作者简介: 李红波(1996-), 女, 硕士研究生, E-mail: 3132554930@qq.com

* 通信作者: 许敏(1976-), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 药物化学生物学, E-mail: xumin@kust.edu.cn

西印度醋栗(*Phyllanthus acidus*)为大戟科(Euphorbiaceae)叶下珠亚科叶下珠属植物,该植物常为绿灌木或小乔木,源自马达加斯加岛,在印度尼西亚、越南、泰国、老挝等地广泛种植。后来引入国内种植,我国云南西双版纳和元江有引种栽培^[1]。在中国,西印度醋栗的同属植物叶下珠(*P. urinaria*)收载于地方中药材标准《云 YCBZ 0010-2005》中,是傣族民间用药,其傣名为“芽害巴”。傣医认为,其味苦、性凉,入风、水塔,中医认为其归肝、脾经。在传统医学中,西印度醋栗的根、茎、叶和果实都具有药用价值。其根茎可用于治疗与疼痛、炎症和氧化应激相关的疾病,如皮炎、风湿病、支气管炎、哮喘、呼吸系统等疾病;其果实用于治疗黄疸、肝病、便秘、呕吐、结石、眼疾等,还具有改善记忆力、缓解咳嗽和预防糖尿病等功效;而叶和根的水醇提取物,可用于治疗发烧、皮炎和酗酒等^[2-3]。近年来,对西印度醋栗的研究逐渐增多,我们及其昆明植物所研究团队对其根及枝叶的药理学和化学成分进行了研究。研究表明,西印度醋栗含有多种化学成分,如黄酮类^[3-4]、倍半萜类^[5-7]、二萜类^[8-11]、三萜类^[12-13]等化合物,与其药理学活性:抗菌、抗炎、抗氧化^[14]、抗 HBV^[1,5,7]、镇痛^[14-15]、保肝^[2,16]和细胞毒等活性密切相关。本课题组前期从傣药西印度醋栗中发现并结构改造一种倍半萜化合物,合成了抗 HBV 的天然倍半萜衍生物 PAC5,该衍生物对 HBV 表面抗原(HBsAg)和 e 抗原(HBeAg)的 IC₅₀ 值分别为 0.81 ± 0.9 μM 和 5.88 ± 0.8 μM^[17]。

西印度醋栗果实可以食用,并具有潜在的药用价值。在印度传统医学中是一种肝脏滋补剂和血液净化剂,用于治疗支气管炎,黄疸及肝病等。据文献报道其具有丰富的药理活性如:抗氧化、抗炎^[18]、抗菌、免疫调节^[19]等,其主要化学成分为黄酮类化合物^[4],此外还有鞣质类和没食子酸衍生物等。研究表明西印度醋栗的提取物对脂质代谢有影响,可导致血清脂质、内脏和皮下脂肪的减少,具有减肥的功效^[20]。为了进一步阐明和发掘西印度醋栗果实的化学物质基础和药用价值,本文对西印度醋栗果实的 70%乙醇提取物进行化学成分研究,并对分离获得的化合物进行抗 HBV 活性和体外脂肪酶抑制活性评价,以期为西印度醋栗果实植物资源的合理开发利用提供科学基础。本研究应用传统的植物化学研究方法,从西印度醋栗

果实中分离得到 13 个单体化合物(图 1),并通过 HRESIMS、IR、1D 和 2D NMR、ECD 计算等现代波谱学方法对其结构进行解析。分别鉴定为 phyllanthacidoid V (1)、Q (2)、H (3) 和 J (4);10R-hydroxyamorph-4-en-3-one(5);myricitrin(6);quercetin-3-O-a-L-rhamnopyranoside(7);quercetin-3,7,3',4'-tetramethyl ether(8);spruceanol(9);tryptophol(10);erythro-(7R,8S)-3'-methoxy-4,7,9,9'-tetrahydroxy-8-O-8-4'-neolignan(11);threo-(7S,8S)-3'-methoxy-4,7,9,9'-tetrahydroxy-8-O-4'-9-neolignan(12);guaiacylglycerol-8-O-4-(coniferyl alcohol)ether(13),这些化合物均首次从西印度醋栗果实中分离得到。本文作者使用 MTT 和 ELISA 法对西印度醋栗的果实分离得到的 13 个化合物进行了抗 HBV 活性测试和胰脂肪酶抑制活性测试。

1 实验仪器与材料

1.1 仪器 Jasco P-1020 数字旋光仪;Thermo NICO-LET iS10 红外光谱仪(KBr 压片法);用 Agilent 6500 系列 Q-TOF 液质联用仪;Bruker DRX-600 核磁共振波谱仪(Bruker Bio-Spin group, Germany), (TMS 作为内标);分析型液相色谱仪 Waters2695/2996(Waters 公司,美国);半制备型液相色谱仪 Waters1525/2998(Waters 公司,美国);多功能酶标仪(Infinite M200Po, 瑞士 ECAN 公司);正相色谱色谱采用 200-300 和 500-800 目的硅胶(青岛海洋化工厂);反相色谱采用的材料有 MCI-gel-CHP-20P(75~150 μm, 三菱化学工业有限公司);Sephadex LH-20(20~100 μm, 日本);薄层色谱采用硅胶板(青岛海洋化工有限公司),显色剂为 10% H₂SO₄-EtOH 溶液;半制备柱采用 Waters sunfire-C18 色谱柱(8 μm, 250 mm × 10 mm)和 ACE C18-PFP 色谱柱(5 μm, 250 mm × 10 mm)。

1.2 材料 西印度醋栗果实于 2022 年 7 月采自云南省西双版纳,共 10.0 kg。由昆明植物研究所杨崇仁研究员鉴定为西印度醋栗(*Phyllanthus acidus*)新鲜果实。样品标本现存放于昆明理工大学生命科学与技术学院药物化学生物学课题组实验室,编号为 KMUST-BS-0801。

2 方法与结果

2.1 提取与分离 西印度醋栗新鲜果实(10.0 kg)经

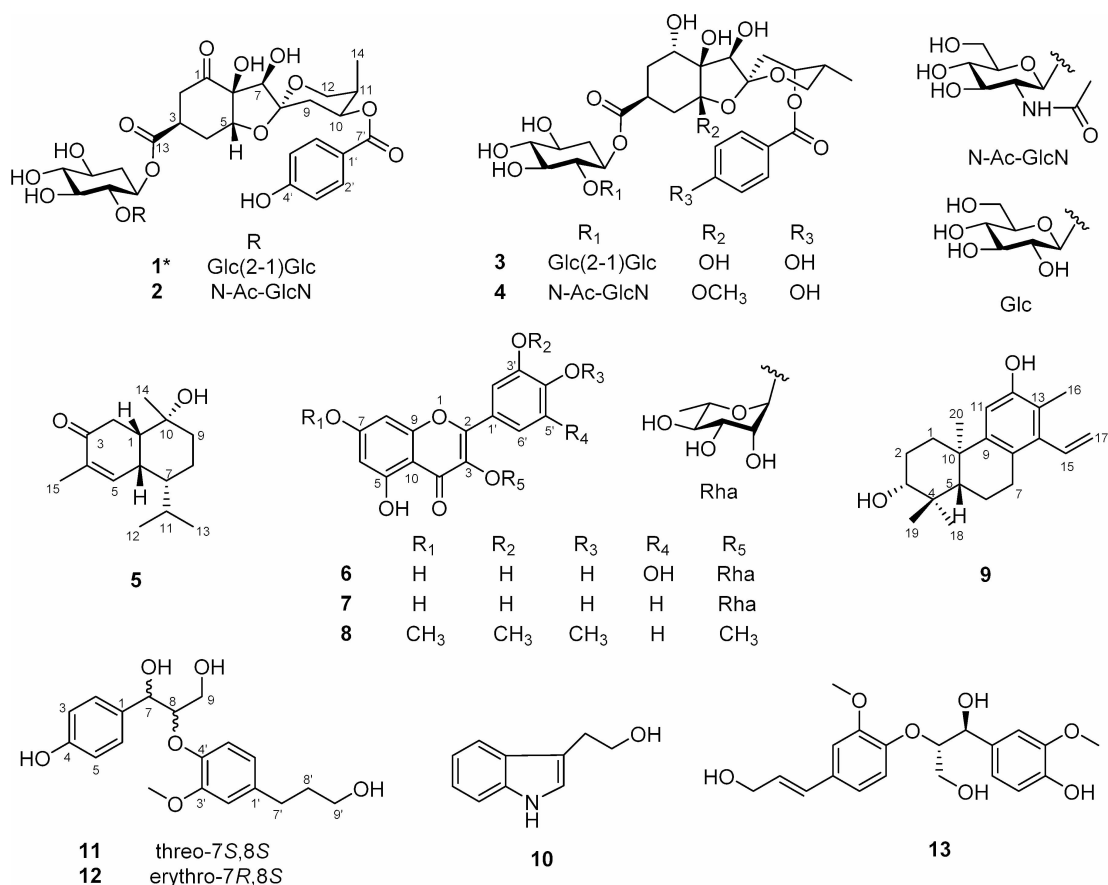


图1 西印度醋栗果实中分离得到的化合物(1-13)

粉碎后用70%乙醇加热回流提取3次(每次分别提取3 h, 2 h, 1 h), 减压浓缩后得到西印度醋栗果实浸膏203 g。随后将浸膏用少量甲醇溶解, 用300 g 聚酰胺拌样, 经Dianion HP-20柱色谱(2 kg, 14 × 65 cm), 用甲醇-水(0%, 30%, 60%, 100%)进行洗脱, 得到4个组分: Fr.1(水相)(150.1 g), Fr.2(15.4 g), Fr.3(10.3 g), Fr.4(11.2 g)。

Fr.2(15.4 g)经MCI柱色谱分离(150 g, 4.0 × 20.0 cm), 依次用10%, 20%, 30%, 100%的甲醇-水进行洗脱得到4个组分: (Fr.2-1~Fr.2-4)。Fr.2-3(1.1 g)经Sephadex LH-20柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(1:1)等度洗脱, 根据TLC检识, 合并得到2个组分(Fr.2-3-1~Fr.2-3-2)。Fr.2-3-1(273 mg)经HPLC(MeCN-H₂O, 17:83, 8 mL/min)进行制备, 得到5个组分(Fr.2-3-1-1~Fr.2-3-1-5)。Fr.2-3-1-2(49 mg)经半制备HPLC(MeCN-H₂O, 20:80, 3 mL/min)进行纯化, 得到化合物**1**(2 mg), **2**(2 mg), **3**(1 mg), **4**(3 mg)。Fr.2-3-2(95 mg)经半制备HPLC(MeCN-H₂O, 30:70, 5 mL/min)进行纯化, 得到化合物**8**(6

mg), **10**(2 mg)。

Fr.3(10.3 g)经MCI柱色谱分离(150 g, 4.0 × 20.0 cm), 依次用50%, 100%的甲醇-水进行洗脱得到2个组分: (Fr.3-1~Fr.3-2)。Fr.3-1(3.9 g)经Sephadex LH-20柱色谱分离, 依次用30%, 40%, 70%, 100%的甲醇-水洗脱, 得到4个组分(Fr.3-1-1~Fr.3-1-4)。Fr.3-1-2(156 mg)经硅胶柱色谱(15 g, 200-300目), 以石油醚-乙酸乙酯(5:1, 2:1, 1:1)洗脱, 得到3个组分(Fr.3-1-2-1~Fr.3-1-2-3)。Fr.3-1-2-2(13 mg)经半制备HPLC(MeCN-H₂O, 30:70, 5 mL/min)进行纯化, 得到化合物**11**(2 mg), **12**(1 mg), **13**(2 mg)。Fr.3-1-4(559 mg)经MCI柱色谱分离(20 g, 4.0 × 20.0 cm), 依次用70%, 100%的甲醇-水进行洗脱得到2个组分: (Fr.3-1-4-1~Fr.3-1-4-2)。Fr.3-1-4-1(122 mg)经半制备HPLC(MeCN-H₂O, 18:82, 5 mL/min)进行纯化, 得到化合物**6**(14 mg)。Fr.3-1-4-2(184 mg)经半制备HPLC(MeCN-H₂O, 28:72, 5 mL/min)进行纯化, 得到化合物**7**(10 mg)。

Fr.4 (11.2 g) 经 MCI 柱色谱分离 (150 g, 4.0 × 20.0 cm), 依次用 40%, 70%, 100% 的甲醇-水进行洗脱得到 3 个组分: (Fr.4-1~Fr.4-3)。Fr.4-3 (4.5 g) 经硅胶柱色谱分离 (80 g, 200-300 目), 以石油醚-乙酸乙酯 (100:1, 60:1, 40:1, 15:1, 1:1) 洗脱, 得到 5 个组分 (Fr.4-3-1~Fr.4-3-5)。Fr.4-3-2 (1.9 g) 经硅胶柱色谱分离 (50 g, 200-300 目), 以石油醚-乙酸乙酯 (60:1, 40:1, 20:1) 洗脱, 得到 3 个组分 (Fr.4-3-2-1~Fr.4-3-2-3)。Fr.4-3-2-2 (200 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 再经硅胶柱色谱分离 (50 g, 200-300 目), 以石油醚-乙酸乙酯 (20:1) 洗脱, 再经半制备 HPLC (MeCN-H₂O, 15:85, 5 mL/min) 进行纯化, 得到化合物 **5** (2 mg)。Fr.4-3-3 (600 mg) 经硅胶 CC (50 g, 200-300 目), 以石油醚-乙酸乙酯 (16:1, 10:1, 1:1) 洗脱, 得到 3 个组分 (Fr.4-3-3-1~Fr.4-3-3-3)。Fr.4-3-3-1 (40 mg) 经半制备 HPLC (MeCN-H₂O, 55:45, 5 mL/min) 进行纯化, 得到化合物 **9** (3 mg)。

2.2 HBV 活性测试 参照文献[21]方法, 以拉米夫定 (3TC) 为阳性对照, 在 HepG2.2.15 细胞上测定化合物 **1-13** 对 HBeAg 和 HBsAg 抗原分泌的抑制效果, 并评估其对该细胞增殖的抑制作用。HepG2.2.15 细胞接种于 48 孔板, 每孔 3 × 10⁴ 细胞, 加入生长培养基, 于 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 使细胞贴壁。吸除原培养基, 将稀释好的样品 (30 μM) 加入板中, 继续在培养箱中孵育 72 h。用 MTT 法检测药物细胞毒性, 用 ELISA 法测定样品对 HBeAg 和 HBsAg 抗原分泌抑制率。按公式计算细胞存活率和抗原抑制率: 细胞存活率 = (实验组/空白组) × 100%; 抗原抑制率 = [(空白组 - 实验组) / 空白组] × 100%。

2.3 胰脂肪酶抑制活性测试 溶液配制: PBS 溶液为 0.1 M pH = 8.0 的 Tris buffer; 根据《分子克隆实验指南》的方法配制: Tris-HCl (1 mol/L), 根据配制的体积, 计算出相应的物质的量, 比如配制 100 mL, 应称取 Tris 1.211 4 g, 用浓盐酸 (0.42 mL) 调节 pH 至 8.0; 猪胰脂肪酶 (PPL) 的配制: 用上述配制好的 0.1 M pH = 8.0 的 Tris buffer 配制为 10 mg/mL 母液, 现配现用; 底物 (p-NPB) 的配制: 用乙腈 (色谱级) 来配制, 母液浓度 10 mM; 阳性药 (奥利司他) 及化合物的配制: 用 DMSO 来配制, 母液浓度 20 mM。

胰脂肪酶活性的测定: 取 155 μL 0.1 M pH = 8.0 的 Tris-HCl 缓冲液、1 μL 40 mM 的待测溶液和 40 μL 10 mg/mL 的胰脂肪酶溶液加入 96 孔板中混匀, 37 °C 下先孵育 10 min 后, 再加入 4 μL p-NPB 底物启动反应, 37 °C 下孵育 30 min, 酶标仪 405 nm 波长处测定吸光值。对照组用 PBS 溶液替代酶液, 每组试验重复 3 次^[22]。计算公式: 抑制率 (%) = [1 - (B - b) / (A - a)] × 100%。式中, A - 对照试验组吸光值; B - 样品试验组吸光值; a - 对照空白组吸光值; b - 样品空白组吸光值。

2.4 结构鉴定 化合物 **1**, 白色粉末, HRESIMS 显示离子峰 m/z : 929.2902 [M + Na]⁺ (计算值为 929.2903), 结合 ¹³C NMR 和 HSQC 信号, 推测分子式为 C₃₀H₅₄O₂₄, 不饱和度为 13。红外光谱显示存在羟基 (3 422 cm⁻¹), 羰基 (1 715 cm⁻¹) 和烯键 (1 609 cm⁻¹) 等官能团信号。¹H NMR 数据 (表 1) 显示了 1 个甲基质子信号 [δ_H 1.08 (3H, d, J = 6.9 Hz)], 1 组 1,4 二取代苯基信号 [δ_H 7.82 (2H, d, J = 8.8 Hz) 和 6.76 (2H, d, J = 8.8 Hz)], 2 个端基质子信号 [δ_H 4.69 (d, J = 7.8 Hz), 4.53 (d, J = 7.7 Hz)]。根据 ¹³C NMR 数据 (表 1), 并结合 HSQC 谱, 表明共有 39 个碳, 包括 2 组葡萄糖信号 [δ_C 103.81 (C-1''), 85.23 (C-2''), 77.35 (C-3''), 70.67 (C-4''), 75.69 (C-5'') 和 62.23 (C-6'')]; [δ_H 106.27 (C-1'''), 77.60 (C-2'''), 77.55 (C-3'''), 70.99 (C-4'''), 77.93 (C-5''') 和 52.75 (C-6''')]; 1 组对位取代的苯环碳信号 [δ_C 122.35 (C-1'), 132.81 (C-2', 6'), 116.20 (C-3', 5') 和 163.69 (C-4')]; 1 组环己醇碳信号 [δ_H 71.64 (C-1''), 84.43 (C-2''), 76.46 (C-3''), 78.93 (C-4''), 69.93 (C-5'') 和 35.82 (C-6'')]; 1 个甲基 [δ_C 10.74 (C-14)]; 1 个酮羰基 [δ_C 211.70 (C-1)]; 2 个酯羰基 [δ_C 175.30 (C-13), 167.39 (C-7')]; 1 个缩酮季碳, 1 个连氧季碳; 以及 4 个亚甲基, 4 个次甲基 (3 个连氧次甲基)。结合上述数据对比, 发现 **1** 与 phyllanthacidoid R^[9] 的信号高度一致, 骨架类型均为降没药烷型倍半萜配糖体, 区别仅在于 **1** 多了一组葡萄糖信号。采用 2D NMR 对化合物的结构进行确证, TOCSY 谱 (图 2) 显示了 H-2/H-3/H-4/H-5, H-1''/H-2''/H-3''/H-4''/H-5''/H-6'', H-1'''/H-2'''/H-3'''/H-4'''/H-5'''/H-6''' 和 H-1''''/H-2''''/H-3''''/H-4''''/H-5''''/H-6'''' 之间的相关信号; HMBC 谱中, 观察到 H2-2 与 C-1, C-13 相关, H-5

与 C-1、C-6 相关, H-7 与 C-6、C-8 相关, H-10 与 C-11、C-7' 相关, H-14 与 C-11、C-12 相关, H-1''' 与 C-2'''、H-1'' 与 C-13 和 H-1''' 与 C-2'' 相关。因此, 通过 TOCSY 和 HMBC 谱确定了 **1** 的平面结构。根据 δ_{H} : 4.69(d, $J=7.8$ Hz, H-1'''), 4.53(d, $J=7.7$ Hz, H-1''') 两个糖端基碳原子上的氢信号的耦合常数, 确定两个葡萄糖均为 β 构型。化合物 **1** 的相对构型是通过耦合常数和 ROESY 谱进一步确定的, 通过 H-3 的耦合常数 [δ_{H} : 3.31(ddd, $J=11.5, 7.8, 3.1$ Hz)] 证明其为 *a* 键型, H-5 的小耦合常数 [δ_{H} : 4.22(t, $J=3.9$ Hz)] 证明其为 *e* 键型, 以及 H-3 与 H-4_{eq}, H-5 与 H-4_{ax} 的 ROESY 相关确定 H-3 与 H-5 在空间上处于相反的位置。此外, 耦合常数 H-12a [δ_{H} : 3.55(dd, $J=11.7, 1.7$)] 与 H-12b [δ_{H} : 4.17(dd, $J=11.7, 2.5$)] 的小耦合常数, 说明 H-11 为 *e* 键型。相反, H-10 与 H-11 之间的大耦合常数 [δ_{H} : 5.31(dt, $J=11.9, 5.1$)] 表明 H-10 与 H-11 在空间上处于同一侧, H-10 为 *a* 键

型。在 ROESY 谱中, 观察到 H-7 与 H-9_{ax}, H-9_{ax} 与 H-10, H-10 与 H-11 的 ROESY 相关, 表明 H-7 与 H-10 和 H-11 在空间上处于同一侧。之前的 ROESY 结果显示 H-3 与 H-5 在空间上处于相反的位置, 并且 H-7 与 H-5 没有 ROESY 相关信号。因此, 化合物 **1** 的相对构型通过 ROESY 相关与耦合常数确定。此外, 对于此类降没药烷型倍半萜, C-8 位的绝对构型可以通过比较 TDDFT 计算 ECD 曲线与实验 ECD 曲线来确定。之前的研究中已经表明, 在 ECD 光谱中, C-8_R 构型在 240–260 nm 处显示出宽的负 Cotton 效应, 而 C-8_S 构型在 240–260 nm 处显示出宽的正 Cotton 效应^[5]。化合物 **1** 的实验 ECD 曲线在 240–260 nm 处显示出宽的负 Cotton 效应, 可以判断其 C-8 位为 *R* 构型。最后, TDDFT 计算的 ECD 曲线与实验曲线(图 3)吻合良好, 确认 **1** 的绝对构型为 3*R*, 5*R*, 6*S*, 7*R*, 8*R*, 10*S*, 11*R*, 将其命名为 phyllanthacidoid V。

表 1 化合物 **1** 的 ^1H (600 MHz) 和 ^{13}C NMR (150 MHz) 谱数据 (δ in ppm)

No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C} , type	No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C} , type
1		211.7, C	1''	4.76, ddd(12.0, 9.5, 4.6)	71.6, CH
2	2.49, d(9.4)	42.5, CH ₂	2''	3.65, m	84.4, CH
3	3.31, ddd(3.1, 7.8, 11.5)	36.7, CH	3''	3.48, m	76.4, CH
4a	2.07, td(12.9, 12.5, 4.5)	31.5, CH ₂	4''	3.31, m	78.9, CH
4b	2.38, brd(12.9)		5''	3.42, ddd(11.5, 9.0, 4.5)	69.9, CH
5	4.22, t(3.9)	84.6, CH	6''a	1.46, q(12.1)	35.8, CH ₂
6		85.4, C	6''b	1.93, m	
7	3.85, m	87.5, CH	1'''	4.69, d(7.8)	103.8, CH
8		109.7, C	2'''	3.35, m	85.2, CH
9a	1.92, dd(12.2, 6.0)	30.7, CH ₂	3'''	3.18, m	77.3, CH
9b	1.24, m		4'''	4.76, m	70.6, CH
10	5.31, dt(11.9, 5.1)	71.5, CH	5'''	3.49, ddd(11.8, 5.5, 3.3)	75.6, CH
11	2.15, m	33.6, CH	6'''a	3.66, dd(8.4, 3.5)	62.2, CH ₂
12a	3.55, dd(11.7, 1.7)	65.6, CH ₂	6'''b	3.65, m	
12b	4.17, dd(11.7, 2.5)		1''''	4.53, d(7.7)	106.2, CH
13		175.3, C	2''''	3.47, m	77.6, CH
14	1.08, d(6.9)	10.7, CH ₃	3''''	3.21, m	77.5, CH
1'		122.3, C	4''''	3.28, m	70.9, CH
2', 6'	7.82, d(8.8)	132.8, CH	5''''	3.26, m	77.9, CH
3', 5'	6.76, d(8.8)	116.2, CH	6''''a	3.71, dd(11.8, 5.9)	62.7, CH ₂
4'		163.6, C	6''''b	3.85, m	
7'		167.3, C			

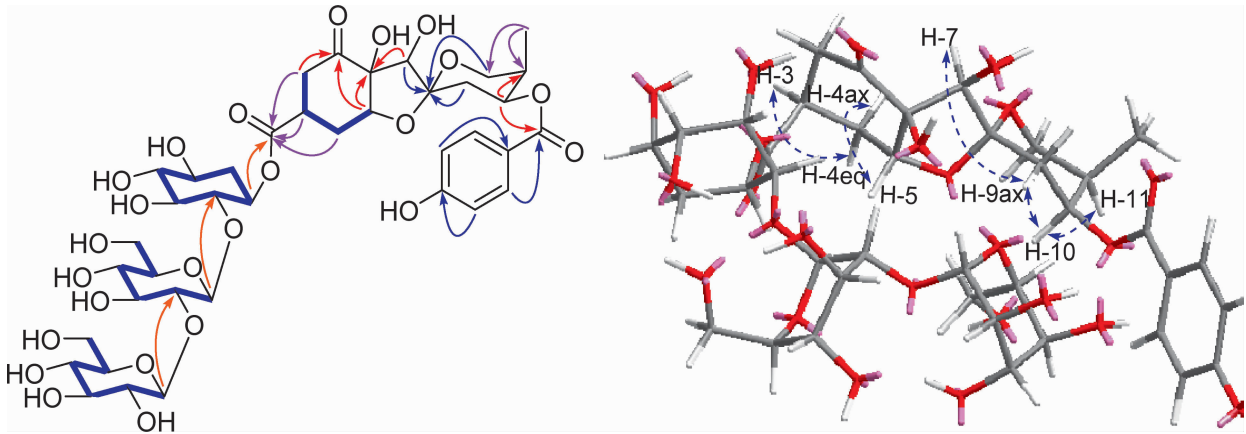


图 2 化合物 1 的 TOCSY、HMBC 以及 ROESY 关键的相关信号

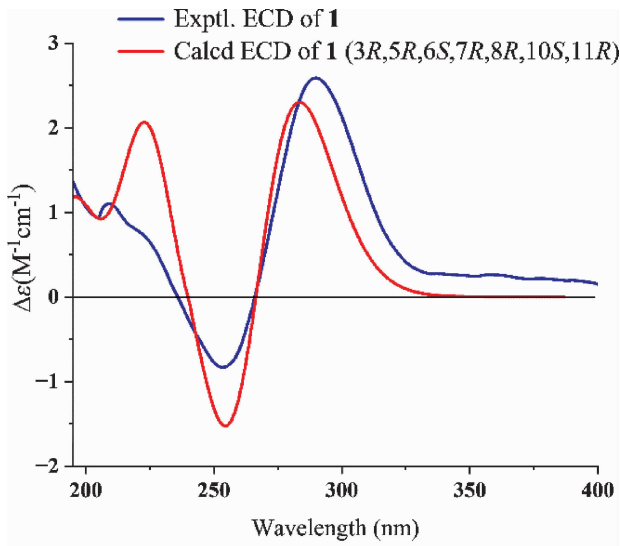


图 3 化合物 1 的实验和计算的 ECD 图

化合物 2: 白色粉末, ESI-MS m/z : 808[M+Na]⁺, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式为: C₃₅H₄₇NO₁₉。 ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_H: 2.61 (d, J =9.4 Hz, 1H, H-2), 3.44 (m, 1H, H-3), 1.97 (m, 1H, H-4a), 2.61 (d, J =14.4 Hz, 1H, H-4b), 4.30 (t, J =3.9 Hz, H, H-5), 3.92 (s, 3H, H-7), 1.99 (ol, 1H, H-9a), 2.11 (m, 1H, H-9b), 5.52 (m, 1H, H-10), 2.23 (t, J =6.7 Hz, 1H, H-11), 3.57 (dd, J =10.3, 8.5 Hz, 1H, H-12a), 4.15 (dd, J =11.9, 8.5 Hz, 1H, H-12b), 1.15 (d, J =7.0 Hz, 1H, H-14), 7.89 (d, J =8.7 Hz, 2H, H-2', 6'), 6.84 (d, J =8.7 Hz, 2H, H-3', 5'), 4.78 (, 1H, H-1''), 3.97 (dd, J =11.8, 2.2 Hz, 1H, H-2''), 3.31 (ol, 1H, H-3''), 3.20 (t, J =9.2 Hz, 1H, H-4''), 3.46 (m, H, H-5''), 1.53 (q, J =12.1 Hz, 1H, H-6''a), 1.99 (m, H, H-6''b), 4.90 (m,

1H, H-1'''), 3.80 (dd, J =8.4, 10.1 Hz, 1H, H-2'''), 3.44 (m, H, H-3'''), 3.35 (m, H, H-4'''), 3.31 (m, H, H-5'''), 3.82 (dd, J =11.7, 6.2 Hz, 1H, H-6''a), 3.97 (dd, J =11.7, 2.2 Hz, 1H, H-6''b), 2.04 (s, 3H, H-2'''')。 ¹³C-NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [5] 对照基本一致, 故鉴定 2 为 phyllanthacidoid Q。

化合物 3: 白色粉末, ESI-MS m/z : 947[M+Na]⁺, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式: C₃₉H₅₆O₂₅。 ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ_H: 3.59 (t, J =3.0 Hz, 1H, H-1), 1.61 (m, 1H, H-2a), 2.23 (m, 1H, H-2b), 2.55 (m, 1H, H-3), 1.72 (m, 1H, H-4a), 2.03 (m, 1H, H-4b), 3.87 (br s, 1H, H-7), 2.11 (m, 1H, H-9), 5.15 (m, 1H, H-10), 2.16 (m, 1H, H-11), 3.67 (dt, J =12.2, 4.5 Hz, 1H, H-12a), 4.17 (m, 1H, H-12b), 0.83 (d, J =6.9 Hz, 1H, H-14), 8.02 (d, J =8.7 Hz, 2H, H-2', 6'), 6.84 (d, J =8.7 Hz, 2H, H-3', 5'), 4.61 (m, 1H, H-1''), 3.24 (dd, J =9.5, 9.5 Hz, 1H, H-2''), 3.40 (dd, J =9.5, 9.5 Hz, 1H, H-3''), 3.35 (m, 1H, H-4''), 3.49 (m, H, H-5''), 1.30 (q, J =12.1 Hz, 1H, H-6''a), 2.11 (m, H, H-6''b), 4.12 (m, 1H, H-1'''), 3.37 (m, 1H, H-2'''), 3.67 (m, 1H, H-3'''), 3.35 (m, 1H, H-4'''), 2.81 (m, 1H, H-5'''), 3.54 (m, 1H, H-6''a), 3.67 (dd, J =12.2, 4.5 Hz, 1H, H-6''b), 4.55 (m, 1H, H-1'''), 3.28 (m, 1H, H-2'''), 3.38 (m, 1H, H-3'''), 3.37 (m, 1H, H-4'''), 3.39 (m, 1H, H-5'''), 3.78 (br s, 1H, H-6''a), 3.84 (m, 1H, H-6''b)。 ¹³C-NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [5] 对照基本一致, 故鉴定 3 为 phyllanthacidoid H。

化合物 4: 白色粉末, ESI-MS m/z : 840[M+Na]⁺,

结合 NMR 数据表明该化合物分子式: $C_{36}H_{51}NO_{20}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 3.75 (dd, $J=3.7, 4.8$ Hz, 1H, H-1), 1.95 (m, 1H, H-2a), 1.99 (m, 1H, H-2b), 2.47 (tt, $J=5.1, 10.7$ Hz, 1H, H-3), 1.72 (dd, $J=10.7, 13.7$ Hz, 1H, H-4a), 2.07 (m, 1H, H-4b), 3.79 (br s, 1H, H-7), 1.96 (dd, $J=3.3, 15.0$ Hz, 1H, H-9a), 2.58 (dd, $J=2.8, 15.0$ Hz, 1H, H-9b), 5.18 (br s, 1H, H-10), 2.09 (m, 1H, H-11), 4.19 (dd, $J=11.6, 11.6$ Hz, 1H, H-12a), 3.73 (m, 1H, H-12b), 0.93 (d, $J=7.2$ Hz, 1H, H-14), 7.90 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, H-2', 6'), 6.76 (d, $J=8.3$ Hz, 2H, H-3', 5'), 4.61 (ol, 1H, H-1''), 3.59 (dq, $J=12.1, 4.5$ Hz, 1H, H-2''), 3.25 (m, 1H, H-3''), 3.20 (m, 1H, H-4''), 3.40 (t, $J=9.3$ Hz, 1H, H-5''), 1.59 (dd, $J=13.7, 10.7$ Hz, 1H, H-6''a), 1.97 (m, 1H, H-6''b), 4.59 (m, 1H, H-1'''), 3.49 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, H-2'''), 3.40 (t, $J=9.2$ Hz, 1H, H-3'''), 3.30 (m, 1H, H-4'''), 3.21 (t, $J=2.9$ Hz, 1H, H-5'''), 3.60 (m, 1H, H-6'''), 1.90 (s, 3H, H-2'''). ^{13}C -NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [5] 对照基本一致, 故鉴定 4 为 phyllanthacidoid J。

化合物 5: 淡黄色油状, ESI-MS m/z : 259[M+Na] $^+$, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式: $C_{15}H_{24}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 2.04 (dt, $J=14.9, 4.5$ Hz, 1H, H-1), 2.24 (dd, $J=17.3, 4.5$ Hz, 1H, H-2a), 2.41 (dd, $J=17.3, 14.9$ Hz, 1H, H-2b), 7.03 (d, $J=6.3$ Hz, 1H, H-5), 2.65 (br s, 1H, H-6), 1.46 (m, 1H, H-7), 1.47 (m, 1H, H-8a), 1.36 (m, 1H, H-8b), 1.49 (m, 1H, H-9a), 1.46 (m, 1H, H-9b), 1.83 (m, 1H, H-11), 0.86 (s, 3H, H-12), 0.85 (s, 3H, H-13), 1.09 (s, 3H, H-14), 1.68 (s, 3H, H-15)。 ^{13}C -NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [23] 对照基本一致, 故鉴定 5 为 10R-hydrox-yamorph-4-en-3-one。

化合物 6: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 465[M+Na] $^+$, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式: $C_{21}H_{20}O_{12}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 6.13 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, H-6), 6.29 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, H-8), 6.88 (s, 2H, H-2', 6'), 5.24 (d, $J=1.7$ Hz, 1H, H-1''), 3.45 (m, 1H, H-2''), 3.24 (m, 1H, H-3''), 3.74 (m, 1H, H-4''), 4.15 (m, 1H, H-5''), 0.89 (d, $J=6.2$ Hz, 1H, H-6'')。 ^{13}C -NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [24] 对照基本一致, 故鉴

定 6 为 myricitrin。

化合物 7: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 449[M+Na] $^+$, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式: $C_{21}H_{20}O_{11}$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 6.11 (s, 1H, H-6), 3.28 (s, 1H, H-8), 7.25 (s, 1H, H-2'), 6.83 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, H-5'), 7.22 (d, $J=6.2$ Hz, 1H, H-6'), 5.31 (d, $J=1.6$ Hz, 1H, H-1''), 3.67 (dd, $J=9.5, 3.3$ Hz, 1H, H-2''), 3.27 (m, 1H, H-3''), 3.74 (m, 1H, H-4''), 4.14 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, H-5''), 0.86 (d, $J=6.2$ Hz, 1H, H-6'')。 ^{13}C -NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [25] 对照基本一致, 故鉴定 7 为 quercetin-3-O-a-L-rhamnopyranoside。

化合物 8: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 359[M+Na] $^+$, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式: $C_{19}H_{18}O_7$ 。 1H NMR (600 MHz, chloroform-*d*) δ_H : 6.43 (s, 2H, H-6, 8), 8.08 (m, 1H, H-2'), 7.69 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, H-5''), 7.74 (dd, $J=8.5, 2.1$ Hz, 1H, H-6''), 3.86 (s, 3H, H-1''), 3.88 (s, 3H, H-2''), 3.97 (s, 3H, H-3''), 3.97 (s, 3H, H-4'')。 ^{13}C -NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [26] 对照基本一致, 故鉴定 8 为 quercetin-3, 7, 3', 4'-tetramethyl ether。

化合物 9: 白色粉末, ESI-MS m/z : 323 [M+Na] $^+$, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式: $C_{20}H_{28}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 3.28 (m, 1H, H-1a), 1.71 (m, 1H, H-1b), 3.31 (m, 1H, H-2a), 2.18 (m, 1H, H-2b), 4.52 (m, 1H, H-3), 1.60 (m, 1H, H-5), 2.06 (m, 2H, H-6), 2.43 (m, 2H, H-7), 6.53 (m, 1H, H-15), 2.03 (s, 3H, H-16), 5.02 (dd, $J=18.0, 2.3$ Hz, 1H, H-17a), 5.42 (dd, $J=18.0, 2.3$ Hz, 1H, H-17b), 0.97 (s, 3H, H-18), 0.79 (s, 3H, H-19), 1.11 (s, 3H, H-20)。 ^{13}C -NMR 数据见表 2。以上数据与文献 [27] 对照基本一致, 故鉴定 9 为 spruceanol。

化合物 10: 白色粉末, ESI-MS m/z : 162 [M+H] $^+$, 结合 NMR 数据表明该化合物分子式: $C_{10}H_{11}NO$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 1.72 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, H-1), 6.99 (t, $J=7.9$ Hz, 1H, H-2), 7.06 (m, 1H, H-3), 7.32 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, H-4), 7.06 (m, 1H, H-6), 7.09 (m, 1H, H-8), 2.97 (t, $J=7.3$ Hz, 2H, H-9), 3.80 (t, $J=7.3$ Hz, 2H, H-10)。 ^{13}C -NMR 数据见表 2。以上数据与

表 2 化合物 2-13 的 ^{13}C -NMR 数据

NO.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	212.0(s)	71.9(d)	71.5(d)	47.1(d)				38.7(t)	119.4(d)	133.2(s)	133.6(s)	133.8(s)
2	42.3(t)	29.2(t)	31.5(t)	37.5(t)	159.3(s)	159.4(s)	155.9(s)	28.7(t)	119.6(d)	128.9(d)	129.3(d)	111.8(d)
3	36.9(d)	35.5(d)	35.6(d)	201.3(s)	136.2(s)	136.3(s)	138.9(s)	79.5(d)	122.3(d)	115.5(d)	115.9(d)	148.9(s)
4	32.0(t)	36.9(t)	31.5(t)	134.9(s)	179.5(s)	179.8(s)	178.7(s)	39.9(s)	123.7(d)	157.6(s)	158.0(s)	147.2(s)
5	84.9(d)	104.9(s)	106.4(s)	152.8(d)	163.1(s)	163.3(s)	162.0(s)	51.1(d)	138.2(s)	115.5(d)	115.9(d)	115.9(d)
6	85.6(s)	78.0(s)	78.3(s)	36.5(d)	99.6(d)	99.9(d)	97.8(d)	20.2(t)	129.0(s)	128.9(d)	129.3(d)	120.8(d)
7	87.6(d)	75.7(d)	77.5(d)	44.0(d)	165.7(s)	166.6(s)	165.4(s)	30.6(t)	112.8(s)	73.6(s)	74.0(s)	74.0(s)
8	109.9(s)	103.2(s)	103.5(s)	20.0(t)	94.5(d)	94.8(d)	90.3(d)	124.7(s)	122.4(d)	86.7(d)	87.1(d)	87.1(d)
9	30.8(t)	36.0(t)	36.6(t)	34.1(t)	158.3(s)	158.6(s)	156.7(s)	148.6(s)	30.0(t)	61.9(t)	62.0(t)	61.9(t)
10	71.8(d)	71.3(d)	71.4(d)	70.7(s)	105.7(s)	106.0(s)	106.0(s)	38.5(s)	63.8(t)			
11	33.8(d)	34.4(d)	33.9(d)	28.7(d)				110.5(d)				
12	65.8(t)	64.2(t)	64.4(t)	21.3(q)				154.3(s)				
13	175.3(s)	176.4(s)	176.0(s)	15.6(q)				120.5(s)				
14	10.9(q)	13.5(q)	13.0(q)	27.1(q)				140.0(s)				
15				15.6(q)				137.3(d)				
16								13.2(q)				
17								119.3(d)				
18								28.8(q)				
19								16.1(q)				
20								25.3(q)				
1'	122.5(d)	123.6(d)	122.8(d)		121.7(s)	123.0(s)	122.9(s)			137.9(s)	138.4(s)	133.2(s)
2'	132.9(d)	134.0(d)	132.9(d)		109.4(d)	116.5(d)	111.1(d)			113.7(d)	114.1(d)	111.3(d)
3'	116.4(d)	116.8(d)	116.1(d)			146.5(s)	151.3(s)			151.7(s)	152.1(s)	151.7(s)
4'	163.8(s)	163.7(s)	163.8(s)		137.7(d)	149.9(s)	148.7(s)			146.8(s)	147.2(s)	149.2(s)
5'	116.4(d)	116.8(d)	116.1(d)		146.7(d)	117.0(d)	110.8(d)			119.9(d)	120.1(d)	118.2(d)
6'	132.9(d)	134.0(d)	132.9(d)		109.4(d)	123.1(d)	122.2(d)			121.6(d)	122.0(d)	120.8(d)
7'	167.6(s)	168.6(s)	167.9(s)							32.4(t)	32.8(t)	128.6(d)
8'										35.3(t)	35.7(t)	131.4(d)
9'										61.6(t)	62.3(t)	63.8(t)
10'										56.1(q)	56.6(q)	56.4(q)
11'												56.6(q)
1''	71.0(d)	70.9(d)	70.3(d)		121.7(s)	113.7(d)	60.2(q)					
2''	81.4(d)	87.3(d)	82.7(d)		71.9(d)	72.0(d)	56.0(q)					
3''	76.9(d)	76.3(d)	77.3(d)		71.9(d)	72.2(d)	56.0(q)					
4''	78.8(d)	77.5(d)	78.3(d)		73.1(d)	72.2(d)	55.8(q)					
5''	69.8(d)	70.2(d)	69.5(d)		71.9(d)							
6''	35.9(t)	35.5(t)	34.7(t)		18.1(q)							
1'''	102.3(d)	105.3(d)	102.7(d)									
2'''	58.4(d)	85.6(d)	58.1(d)									
3'''	76.8(d)	77.8(d)	77.3(d)									
4'''	72.7(d)	71.2(d)	71.4(d)									
5'''	78.4(d)	78.0(d)	77.5(d)									
6'''	63.3(d)	62.7(t)	62.3(t)									
1''''	174.5(s)	106.8(d)	174.5(s)									
2''''	23.2(q)	76.4(d)	22.9(q)									
3''''		78.3(d)										
4''''		70.9(d)										
5''''		78.3(d)										
6''''		62.5(t)										

文献[28]对照基本一致,故鉴定 **10** 为 tryptophol。

化合物 **11**:白色粉末,ESI-MS m/z :371[M + Na]⁺,结合 NMR 数据表明该化合物分子式:C₁₉H₂₄O₆。¹H NMR(600 MHz,CD₃OD) δ_{H} :7.22(d, J =8.4 Hz,2H,H-2,6),6.72(d, J =8.4 Hz,2H,H-3,5),4.83(d, J =5.7 Hz,1H,H-7),4.23(td, J =5.7,3.4 Hz,1H,H-8),3.84(dd, J =12.1,5.7 Hz,1H,H-9a),3.73(dd, J =12.1,3.5 Hz,1H,H-9b),6.81(m,1H,H-2'),6.67(dd, J =8.2,2.0 Hz,1H,H-6'),2.60(t, J =7.7 Hz,2H,H-7'),1.80(m,1H,H-8'),3.55(t, J =6.4 Hz,2H,H-9'),3.80(s,3H,H-10')。¹³C-NMR 数据见表 2。以上数据与文献[29]对照基本一致,故鉴定 **11** 为 erythro-(7*R*,8*S*)-3'-methoxy-4,7,9,9'-tetrahydroxy-8-*O*-8-4'-neolig-nan。

化合物 **12**:白色粉末,ESI-MS m/z :371[M + Na]⁺,结合 NMR 数据表明该化合物分子式:C₁₉H₂₄O₆。¹H NMR(600 MHz,CD₃OD) δ_{H} :7.22(m,2H,H-2,6),6.72(m,2H,H-3,5),4.83(d, J =6.6 Hz,1H,H-7),4.22(td, J =6.6,3.4 Hz,1H,H-8),3.84(m,1H,H-9a),3.72(dd, J =12.0,3.5 Hz,1H,H-9b),6.81(m,1H,H-2'),6.67(dd, J =8.2,2.1 Hz,1H,H-6'),2.60(t, J =7.7 Hz,2H,H-7'),1.79(ddd, J =14.2,7.5,4.5 Hz,1H,H-8'),3.55(t, J =6.5 Hz,2H,H-9'),3.80(s,3H,H-10')。¹³C-NMR 数据见表 2。以上数据与文献[29]对照基本一致,故鉴定 **12** 为 threo-(7*S*,8*S*)-3'-methoxy-4,7,9,9'-tetrahydroxy-8-*O*-4'-9-neolignan。化合物 **12** 与 **11** 的 C-7 和 C-8 的相对构型是根据 $J_{7,8}$ 和 ROESY 中的相关信号来确定的。化合物 **11** 的 $J_{7,8}$ =5.7 Hz, **12** 的 $J_{7,8}$ =6.6 Hz,且化合物 **12** 的 ROESY 中具有 H-7/H-8,H-8/H-2 与 H-6 的相关信号。所以确定了化合物 **11** 的 C-7 和 C-8 的手性构型为 7*R*,8*S*,化合物 **12** 为 7*S*,8*S*。

化合物 **13**:白色粉末,ESI-MS m/z :399[M + Na]⁺,结合 NMR 数据表明该化合物分子式:C₂₀H₂₄O₇。¹H NMR(600 MHz,CD₃OD) δ_{H} :7.01(m,1H,H-2),6.73(d, J =8.1 Hz,1H,H-5),6.83(dd, J =1.9,8.1 Hz,1H,H-6),4.97(ol,1H,H-7),4.20(dd, J =5.8,1.5 Hz,1H,H-8),4.20(dd, J =5.8,1.5 Hz,1H,H-9a),4.37(dd, J =5.8,3.7 Hz,1H,H-9b),7.02(m,1H,H-2'),6.51(dd,

J =15.7,1.6 Hz,1H,H-5'),6.88(d, J =1.1 Hz,1H,H-6'),7.01(m,1H,H-7'),6.73(d, J =8.1 Hz,1H,H-8'),6.24(dt, J =15.7,5.8 Hz,2H,H-9'),3.81(s,3H,H-10'),3.81(s,3H,H-11')。¹³C-NMR 数据见表 2。以上数据与文献[30]对照基本一致,故鉴定化合物 **13** 为 guaiacylglycerol-8-*O*-4-(coniferyl alcohol)ether。

2.5 抗 HBV 活性 本文对西印度醋栗果实中分离得到的化合物 **1-13** 进行抗 HBV 活性测试,以浓度为 30 μM 的拉米夫定作为阳性对照。结果如表 3 所示,研究表明,在 30 μM 浓度下,这些化合物对 HB-sAg 抗原和 HBeAg 的抗原的分泌均未表现出明显的抑制效果。其中,抑制率最高的为化合物 **11**,对 HB-sAg 抗原分泌的抑制率为 29.4%。

表 3 化合物 **1-13** 在 30 μM 浓度下抗 HBV 活性

No.	Cell viability (%) ^b	HBsAg inhibition (%) ^b	HBeAg inhibition (%) ^b
DMSO	95.96 ± 2.49	-14.87 ± 3.56	19.84 ± 5.57
PAC5 ^a	75.85 ± 4.76	90.90 ± 0.20	28.75 ± 6.69
1	95.44 ± 6.93	-3.87 ± 6.07	-65.45 ± 3.78
2	90.32 ± 5.92	-103.63 ± 8.19	-50.46 ± 10.93
3	101.75 ± 4.98	-2.98 ± 5.42	-65.43 ± 9.25
4	93.49 ± 4.07	4.96 ± 4.61	-82.79 ± 4.60
5	89.66 ± 3.19	15.24 ± 4.87	-89.86 ± 3.63
6	109.64 ± 5.06	-19.23 ± 3.11	-81.67 ± 8.24
7	104.00 ± 4.31	27.69 ± 4.60	-71.43 ± 7.80
8	55.33 ± 4.52	0.98 ± 2.24	-42.53 ± 2.85
9	95.64 ± 5.39	22.12 ± 1.13	-74.54 ± 9.13
10	94.23 ± 10.62	24.99 ± 1.89	-73.57 ± 7.19
11	84.79 ± 2.45	29.43 ± 4.61	-89.16 ± 7.68
12	96.32 ± 4.76	10.17 ± 5.81	-45.97 ± 3.66
13	91.80 ± 1.62	17.87 ± 3.75	-35.32 ± 10.32

注: a. PAC5(叶下珠素)作为阳性对照; b. 化合物浓度为 30 μM 。

2.6 胰脂肪酶抑制活性 本文对西印度醋栗果实中分离得到的化合物 **1-13** 进行胰脂肪酶的抑制活性测试。结果表明,在 200 μM 浓度下,这些化合物对胰脂肪酶的抑制均未表现出明显的效果。

表 4 化合物 1-13 在 200 μM 浓度下胰脂肪酶抑制活性

No.	Inhibition (%) ^b
Orlistat ^a	36.68 \pm 2.91
1	14.47 \pm 4.01
2	-2.06 \pm 1.89
3	17.11 \pm 0.88
4	9.78 \pm 6.43
5	12.03 \pm 1.07
6	2.05 \pm 9.22
7	2.48 \pm 3.05
8	12.27 \pm 5.50
9	1.27 \pm 1.89
10	3.92 \pm 2.49
11	15.42 \pm 2.43
12	12.26 \pm 4.28
13	12.99 \pm 0.37

注: a. Orlistat(奥利司他)作为阳性对照; b. 化合物浓度为 200 μM 。

3 结论与讨论

西印度醋栗(*Phyllanthus acidus*)为药食两用民族药,其提取物具有抗氧化、抗菌、减肥、降压、保肝等多方面药理活性,但相关化学成分研究较少。进一步的研究和探索将有助于充分发掘西印度醋栗果实的潜力,并为其在医药和食品领域的应用提供科学依据。因此,本文作者对云南元江产西印度醋栗进行了化学成分及生物活性研究,经分离纯化共得到 13 个单体化合物,这些化合物均首次从西印度醋栗果实中分离得到,其中化合物 1 为新的没药烷型倍半萜。对 13 个化合物进行抗 HBV 活性测试,经过初筛后,发现这些化合物毒性小,活性弱,对 HBsAg 抗原和 HBeAg 的抗原的分泌均未表现出明显的抑制效果。此外,对这些化合物进行胰脂肪酶的抑制活性测试。结果表明,这些化合物对胰脂肪酶也没有明显的抑制效果。因此,需要进一步对其化学成分进行系统研究,寻找出具有生物活性的单体化合物。本文丰富了西印度醋栗果实的化学成分,并评估了化合物的生物活性,为该植物资源进一步的开发与利用提供参考和科学依据。

参考文献:

- [1] GU C, YIN A P, YUAN H Y, et al. New anti-HBV norbisabolane sesquiterpenes from *Phyllanthus acidus*[J]. *Fitoterapia*, 2019, 137: 104151.
- [2] JAIN, NK. Effects of *Phyllanthus acidus*(L.) Skeels fruit on carbon tetrachloride-induced acute oxidative damage in livers of rats and mice[J]. *J Chin Integr Med*, 2011, 9(1): 49-56.
- [3] DUONG T H, BENIDDIR M A, NGUYEN V K, et al. Sulfonic acid-containing flavonoids from the roots of *Phyllanthus acidus*[J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(9): 2026-2031.
- [4] XU J, XIN Y, ZHU H T, et al. Flavonoids from the fruits of *Phyllanthus acidus*(L.) Skeels with anti- α -glucosidase activity[J]. *Nat Prod Res*, 2023, 37(12): 1986-1992.
- [5] LV J J, YU S, WANG Y F, et al. Anti-hepatitis B virus norbisabolane sesquiterpenoids from *Phyllanthus acidus* and the establishment of their absolute configurations using theoretical calculations[J]. *J Org Chem*, 2014, 79(12): 5432-5447.
- [6] XIN Y, XU M, WANG Y F, et al. Phyllanthacidoid U: a new N-glycosyl norbisabolane sesquiterpene from *Phyllanthus acidus*(L.) Skeels[J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(21): 3540-3547.
- [7] TAN S P, TAN E N Y, LIM Q Y, et al. *Phyllanthus acidus*(L.) Skeels: a review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacological properties[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 253: 112610.
- [8] DUONG T H, BUI X H, LE POGAM P, et al. Two novel diterpenes from the roots of *Phyllanthus acidus*(L.) Skeel[J]. *Tetrahedron*, 2017, 73(38): 5634-5638.
- [9] DUONG T H, TRUNG N T, PHAN C T D, et al. A new diterpenoid from the leaves of *Phyllanthus acidus*[J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(2): 539-545.
- [10] ZHENG X H, YANG J, LV J J, et al. Phyllaciduloids A-D: four new cleistanthane diterpenoids from *Phyllanthus acidus*(L.) Skeels[J]. *Fitoterapia*, 2018, 125: 89-93.
- [11] GENG H C, ZHU H T, WANG D, et al. Phyllanacidins A-C, three new cleistanthane diterpenoids from *Phyllanthus acidus* and their cytotoxicities[J]. *Fitoterapia*, 2021, 148: 104793.
- [12] SENGUPTA P, MUKHOPADHYAY J. Terpenoids and related compounds-VII: triterpenoids of *Phyllanthus acidus*

- skeels[J]. *Phytochemistry*, 1966, 5(3):531–534.
- [13] SICHAEM J, VO H C, NHA TRAN T, et al. 29-Norlupane-1 β -hydroxy-3,20-dione, a new norlupane triterpenoid from the twigs and leaves of *Phyllanthus acidus* [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(20):3384–3389.
- [14] MONIRUZZAMAN M, ASADUZZAMAN M, HOSSAIN S M, et al. In vitro antioxidant and cholinesterase inhibitory activities of methanolic fruit extract of *Phyllanthus acidus* [J]. *BMC Complementary Altern Med*, 2015, 15:403–413.
- [15] CHAKRABORTY R, BIPLAB D, DEVANNA N, et al. Antiinflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Phyllanthus acidus* L. extract[J]. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2012, 6(13):991–997.
- [16] JAIN N K, LODHI S, JAIN A, et al. Protective effects of *Phyllanthus acidus*(L.) Skeels extract on acetaminophen mediated hepatic injury and oxidative stress in wistar rats [J]. *J Complementary Integr Med*, 2010, 7(1):470–474.
- [17] ZUO D, CHEN Y, CAI J P, et al. A hnRNPA2B1 agonist effectively inhibits HBV and SARS-CoV-2 omicron in vivo[J]. *Protein Cell*, 2023, 14(1):37–50.
- [18] MANIKANDAN R, BEULAJA M, THIAGARAJAN R, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Phyllanthus acidus* L. fruits and characterization of its anti-inflammatory effect against H₂O₂ exposed rat peritoneal macrophages[J]. *Process Biochem(Oxford, UK)*, 2017, 55:172–181.
- [19] SUGIHARTO S. The potentials of two underutilized acidic fruits(*Averrhoa bilimbi* L. and *Phyllanthus acidus* L.) as phytobiotics for broiler chickens[J]. *J Adv Vet Anim Res*, 2020, 10:179–185.
- [20] RADENAHMAD, JANSAKUL, CHONGSA. Six weeks oral gavage of a *Phyllanthus acidus* leaf water extract decreased visceral fat, the serum lipid profile and liver lipid accumulation in middle-aged male rats[J]. *J Ethnopharmacology*, 2014, 155(1):396–404.
- [21] WU J, LI X, GUO X, et al. Briarane-type diterpenoids from a gorgonian coral *Ellisella* sp. with anti-HBV activities[J]. *Bioorg Chem*, 2020, 105:104423.
- [22] YE H, XU Y, SUN Y, et al. Purification, identification and hypolipidemic activities of three novel hypolipidemic peptides from tea protein[J]. *Food Res Int*, 2023, 165:112450.
- [23] WU S J, FOTSO S, LI F, et al. Amorphane sesquiterpenes from a marine *Streptomyces* sp[J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(2):304–306.
- [24] KIM H H, KIM D H, KIM M H, et al. Flavonoid constituents in the leaves of *Myrica rubra* sieb. et zucc. with anti-inflammatory activity[J]. *Arch Pharmacol Res*, 2013, 36(12):1533–1540.
- [25] 陈芳有, 陈志超, 黄伟明, 等. 丝穗金粟兰化学成分及其神经保护活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(8):1333–1338.
- [26] CITOGLU G, TANKER M, SEVER B. Flavonoid aglycons from *Ballota saxatilis* subsp. saxatilis[J]. *Pharm Biol(Lisse, Neth)*, 1999, 37(2):158–160.
- [27] GUNASEKERA S P, CORDELL G A, FARNSWORTH N R. Potential anticancer agents. XIV. Isolation of spruceanol and montanin from *Cunuria spruceana* (Euphorbiaceae)[J]. *J Nat Prod*, 1979, 42(6):658.
- [28] GU Q, BASU S, KNEE J L. Tryptophol cation conformations studied with ZEKE Spectroscopy[J]. *J Phys Chem A*, 2007, 111(10):1808–1813.
- [29] PARK S J, KIM N, YOO G, et al. Phenolics and neolignans isolated from the fruits of *Juglans mandshurica* Maxim. and their effects on lipolysis in adipocytes[J]. *Phytochemistry*, 2017, 137:87–93.
- [30] LOURITH N, KATAYAMA T, SUZUKI T. Stereochemistry and biosynthesis of 8-O-4' neolignans in *Eucommia ulmoides*: diastereoselective formation of guaiacyl-glycerol-8-O-4'-(sinapyl alcohol) ether[J]. *J Wood Sci*, 2005, 51(4):370–378.

(收稿日期:2024-06-24)