

• 化学成分 •

波罗蜜根中的异戊烯基黄酮类成分及其抗炎活性研究

孙宁喆¹, 李文艳¹, 邱玉敏¹, 赵海萍², 朱玉野¹, 钟国跃¹, 任 刚^{1*}

1. 江西中医药大学 中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004

2. 江西中医药大学中医学院, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 研究波罗蜜 *Artocarpus heterophyllus* 根的化学成分及其生物活性。方法 采用 HP-20 大孔吸附树脂、sephadex LH-20 凝胶等柱色谱以及制备高效液相技术进行化学成分分离, 采用 NMR 和 ESI-MS 等光谱方法进行化合物结构鉴定; 采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导 RAW264.7 细胞释放 NO 的细胞模型评价所分离化合物的抗炎活性。**结果** 分离得到 6 个异戊烯基黄酮衍生物, 其结构分别鉴定为 2S-5,7-二羟基-2-(2-羟基-4,6-二甲氧基苯基)-6-(3-甲基丁-2-烯-1-基)色原-4-酮 (**1**)、heteroflavanone C (**2**)、kuwanon C (**3**)、artoindonesianin A-2 (**4**)、artoindonesianin S (**5**)、norartocarpin (**6**)。化合物 **1**、**3**、**4** 能不同程度地抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (9.0±1.2)、(19.4±3.5)、(24.6±5.7) μmol/L, 而化合物 **2**、**5**、**6** 则无明显的活性。**结论** 化合物 **1** 为新化合物, 命名为波罗蜜黄酮酮 D; 化合物 **3**~**5** 为首次从波罗蜜属植物中分离得到, 化合物 **6** 为首次从波罗蜜中分离得到。化合物 **1**、**3**、**4** 具有作为抗炎药物开发的潜在价值。

关键词: 波罗蜜; 异戊烯基黄酮; 波罗蜜黄酮酮 D; 抗炎; 黄酮酮; kuwanon C; artoindonesianin A-2

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)20-6369-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.20.008

Prenylated flavonoids from the roots of *Artocarpus heterophyllus* and their anti-inflammatory bioactivitiesSUN Ning-zhe¹, LI Wen-yan¹, QIU Yu-min¹, ZHAO Hai-ping², ZHU Yu-ye¹, ZHONG Guo-yue¹, REN Gang¹

1. Research Center of Natural Resources of Chinese Medicinal Materials and Ethnic Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the roots of *Artocarpus heterophyllus* and their bioactivities. **Methods** HP-20 macroporous adsorption resin, Sephadex LH-20 gel column chromatography and preparative high performance liquid chromatography were used to separate the chemical constituents. The structures of all isolates were elucidated by spectroscopic methods, including NMR and HR-ESI-MS. The anti-inflammatory activity of all isolates was evaluated by using a cell model in which NO was produced by LPS-stimulated RAW264.7 cells. **Results** Six prenylated flavonoid derivatives were isolated and their structures were identified as 2S-5,7-dihydroxy-2-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-6-(3-methylbut-2-en-1-yl) chroman-4-one (**1**), heteroflavanone C (**2**), kuwanon C (**3**), artoindonesianin A-2 (**4**), artoindonesianin S (**5**), and norartocarpin (**6**). Compounds **1**, **3** and **4** inhibited the release of NO from LPS-induced RAW264.7 cells to varying degrees with the IC₅₀ values of (9.0±1.2), (19.4±3.5) and (24.6±5.7) μmol/L, respectively. In contrast, compounds **2**, **5** and **6** showed no obvious activity against the NO production in LPS-stimulated RAW264.7 cells. **Conclusion** Compound **1** named as heteroflavanone D is a new structure. It is the first report of the occurrence of compounds **3**—**5** in the genus *Artocarpus*, and compound **6** is isolated from *A. heterophyllus* for the first time. Compounds **1**, **3** and **4** have potential value as anti-inflammatory drugs.

收稿日期: 2022-07-23

基金项目: 江西中医药大学校级科技创新团队发展计划 (CXTD22002); 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ211243); 江西省中医药管理局科技计划 (2020A0355)

作者简介: 孙宁喆 (1997—), 男, 在读硕士研究生, 专业方向为民族药学。E-mail: 2738951817@qq.com

*通信作者: 任 刚, 男, 教授, 博导, 研究方向为中药和民族药的药效物质基础。Tel: (0791)87119060 E-mail: 20091005@jxutcm.edu.cn

Key words: *Artocarpus heterophyllus* Lam.; prenylated flavonoids; heteroflavanone D; anti-inflammatory; flavanones; kuwanon C; artoindonesianin A-2

波罗蜜 *Artocarpus heterophyllus* Lam. 为桑科波罗蜜属植物, 又名“树婆罗”“牛肚子果”“蜜冬瓜”等, 原产于印度热带地区, 其果实硕大、美味, 为世界著名的热带水果。约在隋唐时期波罗蜜从印度引入中国, 在我国福建、台湾、广东、广西及海南等省作为果树和绿化树种广泛栽培。《本草纲目》载, 波罗蜜“甘、香、微酸, 平, 无毒”, 具有“止渴解烦, 醒酒益气, 令人悦泽”的功效^[1]。在云南省西双版纳傣族自治州, 波罗蜜的幼果、树汁、叶及树皮被当地傣族人民用于消肿解毒、跌打损伤、肺热咳嗽、产妇无乳汁、食欲不振、饮酒过度等^[2]。国内外对波罗蜜的化学成分研究表明, 其含有大量黄酮^[3]、二苯乙烯^[4]、2-芳基苯并呋喃^[5]等酚性成分, 具有细胞毒^[6]、抗炎^[7]、抗 HIV 病毒^[8]、抗中性粒细胞呼吸爆发^[9]以及酪氨酸酶抑制^[10]等活性。前期研究中, 本课题组发现波罗蜜根的 95%乙醇提取物在 0.6 g/kg 剂量条件下对牛 II 型胶原与弗氏不完全

佐剂诱导的大鼠类风湿性关节炎具有较好的改善作用, 随后对该提取物进行了研究, 从中分离得到了 40 多个酚性成分。本研究继续对该部位进行化学成分研究, 从中分离得到了 6 个具有异戊烯基取代的黄酮类成分, 分别鉴定为 2*S*-5,7-二羟基-2-(2-羟基-4,6-二甲氧基苯基)-6-(3-甲基丁-2-烯-1-基)色原-4-酮 [2*S*-5,7-dihydroxy-2-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-6-(3-methylbut-2-en-1-yl)chroman-4-one, **1**]、heteroflavanone C (**2**)、kuwanon C (**3**)、artoindonesianin A-2 (**4**)、artoindonesianin S (**5**)、norartocarpin (**6**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为波罗蜜黄烷酮 D; 化合物 **3**~**5** 为首次从该属中分离得到; 化合物 **6** 为首次从该植物中分离得到。所有的化合物进行了体外抗炎活性评价, 其中化合物 **1**、**3**、**4** 能不同程度的抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO, 而化合物 **2**、**5**、**6** 无明显的活性。

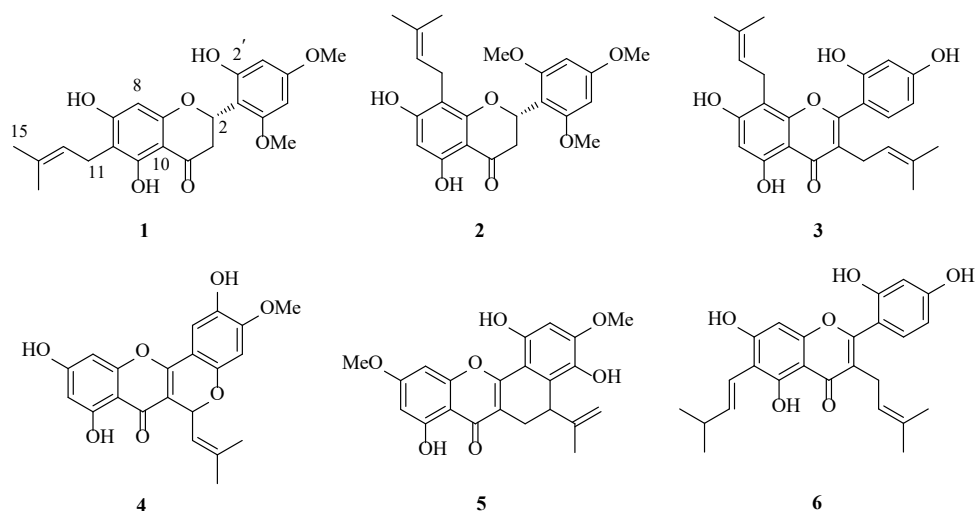


图 1 化合物 1~6 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—6

1 仪器与材料

Bruker AVANCE III HD 600MHz 核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司); TripleTOF5600⁺ 高分辨飞行时间质谱联用仪 (美国 AB SCIEX 公司); IRAffinity-1 傅里叶变换红外光谱仪 (日本岛津公司); UV-1800 型紫外可见分光光度计 (日本 Shimadzu 公司); R-210 型旋转蒸发器 (瑞士 BUCHI 公司); SHB-III 型循环水式真空泵 (郑州长城科工

贸易有限公司); CP-214 型电子天平 (上海奥豪斯仪器有限公司); SZ-93A 型双重纯水蒸馏器 (上海亚荣生化仪器厂); 薄层色谱硅胶板 (烟台江友硅胶开发有限公司); HP-20 大孔吸附树脂、MCI CHP-20P 树脂 (日本三菱化学株式会社); Sephadex LH-20 凝胶 (瑞士 Amer-sham Pharmacia 公司); YMC-Pack ODS 半制备柱 (250 mm×10 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司); LC-3000 半制备梯度高效液相系

统(北京创新通恒科技有限公司); 色谱级甲醇、乙腈(美国天地有限公司); 其他所用溶剂均为分析纯(西陇化工股份有限公司); RAW 264.7 细胞(中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库); 布洛芬(阿拉丁试剂有限公司, 批号 I129291); 一氧化氮(NO)检测试剂盒(碧云天生物科技公司, 批号 S0021)。LPS(北京索莱宝科技有限公司, 货号 L8880)。

波罗蜜根于 2013 年 3 月采自广西壮族自治区南宁市, 由江西中医药大学中药资源与民族药研究中心慕泽涇副教授鉴定为桑科波罗蜜属植物波罗蜜 *A. heterophyllus* Lam. 的根, 凭证标本(TCM01-01-2013)保存于江西中医药大学中药资源与民族药研究中心标本室。

2 提取与分离

取波罗蜜根 17.0 kg, 干燥、粉碎, 药粉在室温下用 95%乙醇浸提 3 次(料液比 1:10), 得到浸出液, 滤过后合并, 减压浓缩得总浸膏 1.5 kg。将总浸膏与水 1:1 混悬, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 得到石油醚部位 213.3 g, 氯仿部位 574.0 g、醋酸乙酯部位 382.0 g、正丁醇部位 152.4 g。氯仿部位经大孔树脂柱色谱(0~95%乙醇)得到 11 个流分 Fr. H1~H11。Fr. H8(57.3 g)经 ODS 反相硅胶柱色谱(40%~95%乙醇)得到 6 个流分 Fr. H8O1~H8O6。Fr. H8O2(13.7 g)进一步经过 MCI CHP-20P 树脂柱色谱(40%~95%乙醇)得到 7 个流分 Fr. H8O2M1~H8O2M7。Fr. H8O2M3(3.0 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(甲醇-氯仿 10:1)得 8 个流分 Fr. H8O2M3L1~H8O2M3L8。Fr. H8O2M3L4(3.0 g)经半制备型高效液相色谱(60%乙腈, 3 mL/min)反复纯化获得化合物 6(6.4 mg, $t_R=30$ min)。Fr. H8O3(8.8 g)经相似的过程获得化合物 1(3.0 mg, 75%甲醇, $t_R=27$ min)、2(15.0 mg, 70%甲醇, $t_R=27$ min)、3(16.2 mg, 55%乙腈, $t_R=24$ min)、4(6.0 mg, 79%甲醇, $t_R=26$ min)、5(9.5 mg, 65%甲醇, $t_R=32$ min)。

3 结构鉴定

化合物 1: 黄色无定形粉末(丙酮)。HR-ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 399.145 4 $[M-H]^-$ (计算值为 399.144 9), 确定其分子式为 $C_{22}H_{24}O_7$ 。红外光谱(IR)显示其结构中存在羟基(3427 cm^{-1})、甲基(2924 cm^{-1})、羰基(1633 cm^{-1})、苯环(1600、1454 cm^{-1})等特征信号峰。紫外光谱(UV)显示在 236、292 nm 处有特征性吸收。 1H -NMR 谱(表

1) 显示了 2 个羟基质子 δ_H 12.51 (1H, s, 5-OH), 9.91 (1H, s, 2'-OH); 2 个间位偶合芳香质子 δ_H 6.10 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-5') 和 6.08 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3'); 1 个孤立芳香质子 δ_H 5.89 (1H, s, H-8); 1 组典型的脂环型 ABX 自旋偶合体系 δ_H 5.75 (1H, dd, $J=13.9$, 3.1 Hz, H-2), 3.84 (1H, dd, $J=17.3$, 13.9 Hz, H_{ax}-3) 和 2.39 (1H, dd, $J=17.3$, 3.1 Hz, H_{eq}-3)^[11]; 1 组 γ , γ 二甲基烯丙基型异戊烯基的质子信号 δ_H 5.12 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-12), 3.10 (2H, d, $J=7.0$, H-11), 1.69 (3H, s, H-14) 和 1.61 (3H, s, H-15)^[12]; 2 个甲氧基 δ_H 3.72 (3H, s, 6'-OMe) 和 3.71 (3H, s, 4'-OMe)。化合物 1 的 ^{13}C -NMR 谱共显示了 22 个碳原子信号。结合 DEPT 135 及 HSQC 谱, 可辨识这些碳信号来自表 1 化合物 1 的 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 波谱数据 (600/150 MHz, DMSO- d_6)

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

碳位	δ_H	δ_C
2	5.75 (1H, dd, $J=13.9$, 3.1 Hz)	71.1
3	3.84 (1H, dd, $J=17.3$, 13.9 Hz) 2.39 (1H, dd, $J=17.3$, 3.1 Hz)	40.0
4		197.7
5		160.7
6		107.2
7		164.0
8	5.89 (1H, s)	94.2
9		161.6
10		101.4
11	3.10 (2H, d, $J=7.0$ Hz)	20.7
12	5.12 (1H, t, $J=7.0$ Hz)	122.8
13		130.2
14	1.69 (3H, s)	17.7
15	1.61 (3H, s)	25.5
1'		104.4
2'		157.9
3'	6.08 (1H, d, $J=2.3$ Hz)	94.0
4'		161.2
5'	6.10 (1H, d, $J=2.3$ Hz)	90.3
6'		160.1
4'-OMe	3.71 (3H, s)	55.1
6'-OMe	3.72 (3H, s)	55.7
5-OH	12.51 (1H, s)	
2'-OH	9.91 (1H, s)	

4 个 sp^2 杂化的次甲基、11 个 sp^2 杂化的季碳 (包括 1 个羰基碳)、4 个 sp^3 杂化的甲基 (包括 2 个甲氧基)、2 个 sp^3 杂化的亚甲基和 1 个 sp^3 杂化的次甲基。这些 NMR 数据与已知的异戊烯基黄烷酮类化合物 kenusanone D^[11] 高度相似, 二者 NMR 谱的差异体现在化合物 **1** 比 kenusanone D 多了 1 组甲氧基信号, 提示化合物 **1** 为 kenusanone D 的甲基衍生物。采用 HMBC 和 HSQC 谱对 **1** 的所有质子和碳信号进行了全归属 (表 1), 并确定了 2 个甲氧基及异戊烯基的取代位置。HMBC 谱中, H₂-11 (δ_H 3.1) 与 C-5 (δ_C 160.7)、C-6 (δ_C 107.2)、C-7 (δ_C 164.0) 的相关信号证实了 γ,γ 二甲基烯丙基型异戊烯基取代在 C-6 位; 而 4'-OMe (δ_H 3.71) 和 6'-OMe (δ_H 3.72) 分别与 C-4' (δ_C 161.2) 和 C-6' (δ_C 160.1) 相关则确定了 2 个甲氧基的连接位置。此外, 通过图 2 所示的 HMBC 相关数据确定了黄烷酮骨架 A、B 环上的氧化取代类型。化合物 **1** 具有旋光活性, 其比旋光值 $[\alpha]_D^{25}$ -27.5 (c 0.1, MeOH), 表明 C-2 的立体构型为 $S^{[13]}$ 。故化合物 **1** 鉴定为 2*S*-5,7-dihydroxy-2-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-6-(3-methylbut-2-en-1-yl)chroman-4-one (图 1), 是 1 个新的异戊烯基黄烷酮衍生物, 命名为波罗蜜黄烷酮 D (heteroflavanone D)。

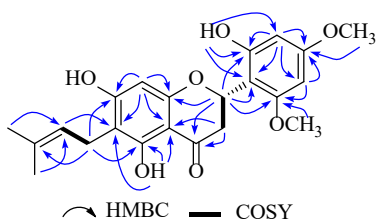


图 2 化合物 **1** 的主要 HMBC (H→C) 和 ¹H-¹H COSY 相关
Fig. 2 Key HMBC (H→C) and ¹H-¹H COSY correlations of compound **1**

化合物 **2**: 黄色无定形粉末 (甲醇)。C₂₃H₂₆O₇, ESI-MS m/z : 413.2 [M-H]⁻。喷 10% 硫酸乙醇溶液并加热显棕色; 喷 5% 三氯化铁乙醇溶液显墨绿色。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.26 (2H, s, H-3', 5'), 5.88 (1H, s, H-6), 5.84 (1H, dd, J = 13.7, 3.2 Hz, H-2), 5.11 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-12), 3.84 (3H, s, 4'-OMe), 3.82 (6H, s, 2', 6'-OMe), 3.79 (1H, dd, J = 17.3, 13.7 Hz, H-3ax), 3.07 (2H, d, J = 7.5 Hz, H-11), 2.37 (1H, dd, J = 17.3, 3.2 Hz, H-3eq), 1.58 (3H, s, H-14), 1.48 (3H, s, H-15); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 72.6 (C-2), 40.9 (C-3), 199.8 (C-4), 163.6 (C-5), 95.9 (C-6), 165.9 (C-7), 108.8 (C-8), 162.8 (C-9), 103.2

(C-10), 107.8 (C-1'), 161.5 (C-2', 6'), 92.1 (C-3', 5'), 163.2 (C-4'), 22.4 (C-11), 123.9 (C-12), 131.3 (C-13), 26.0 (C-14), 17.6 (C-15), 56.3 (2', 6'-OMe), 55.7 (4'-OMe)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **2** 为 heteroflavanone C。

化合物 **3**: 黄色无定形粉末 (丙酮)。C₂₅H₂₆O₆, ESI-MS m/z : 421.2 [M-H]⁻。喷 10% 硫酸乙醇溶液并加热显黄绿色; 喷 5% 三氯化铁乙醇溶液显墨绿色。¹H-NMR (600 MHz, acetone-*d*₆) δ : 7.22 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-6'), 6.57 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-3'), 6.52 (1H, dd, J = 8.3, 2.2 Hz, H-5'), 6.32 (1H, s, H-6), 5.19 (1H, t, J = 7.3 Hz, H-12), 5.13 (1H, t, J = 6.9 Hz, H-17), 3.35 (2H, d, J = 7.3 Hz, H-11), 3.11 (2H, d, J = 6.9 Hz, H-16), 1.57 (6H, s, H-19, 20), 1.56 (3H, s, H-14), 1.42 (3H, s, H-15); ¹³C-NMR (150 MHz, acetone-*d*₆) δ : 162.2 (C-2), 121.1 (C-3), 183.2 (C-4), 160.8 (C-5), 98.6 (C-6), 161.8 (C-7), 106.7 (C-8), 157.2 (C-9), 105.0 (C-10), 112.9 (C-1'), 156.4 (C-2'), 103.6 (C-3'), 161.3 (C-4'), 107.9 (C-5'), 132.2 (C-6'), 24.5 (C-11), 123.1 (C-12), 132.0 (C-13), 17.7 (C-14), 25.9 (C-15), 22.0 (C-16), 122.7 (C-17), 131.5 (C-18), 25.8 (C-19), 17.6 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **3** 为 kuwanon C。

化合物 **4**: 黄色无定形粉末 (丙酮)。C₂₁H₁₈O₇, ESI-MS m/z : 381.1 [M-H]⁻。喷 10% 硫酸乙醇溶液并加热显橙黄色; 喷 5% 三氯化铁乙醇溶液显墨绿色。¹H-NMR (600 MHz, acetone-*d*₆) δ : 7.24 (1H, s, H-6'), 6.58 (1H, s, H-3'), 6.55 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.25 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.17 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-11), 5.51 (1H, m, H-12), 3.92 (3H, s, 4'-OMe), 1.94 (3H, d, J = 1.2 Hz, H-15), 1.68 (3H, d, J = 1.2 Hz, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, acetone-*d*₆) δ : 156.6 (C-2), 110.4 (C-3), 179.1 (C-4), 163.3 (C-5), 99.8 (C-6), 164.7 (C-7), 94.9 (C-8), 158.1 (C-9), 105.5 (C-10), 108.1 (C-1'), 151.8 (C-2'), 101.9 (C-3'), 153.9 (C-4'), 142.6 (C-5'), 109.3 (C-6'), 56.5 (4'-OMe), 69.9 (C-11), 122.0 (C-12), 138.6 (C-13), 18.6 (C-14), 25.9 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **4** 为 artoindonesianin A-2。

化合物 **5**: 黄色无定形粉末 (甲醇)。C₂₂H₂₀O₇, ESI-MS m/z : 395.1 [M-H]⁻。喷 10% 硫酸乙醇溶液并加热显黑色; 喷 5% 三氯化铁乙醇溶液显黑色。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.49 (1H, s, H-3'),

6.48 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.29 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 4.55 (1H, brs, H-14a), 4.09 (1H, brs, H-14b), 3.82 (1H, brd, $J = 6.4$ Hz, H-12), 3.81 (3H, s, 7-OMe), 3.80 (3H, s, 4'-OMe), 3.20 (1H, dd, $J = 15.8, 1.3$ Hz, H-11a), 2.31 (1H, dd, $J = 15.8, 6.4$ Hz, H-11b), 1.65 (3H, s, H-15); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.0 (C-2), 111.2 (C-3), 179.6 (C-4), 161.0 (C-5), 97.7 (C-6), 164.6 (C-7), 92.2 (C-8), 156.5 (C-9), 106.2 (C-10), 104.3 (C-1'), 150.4 (C-2'), 99.7 (C-3'), 152.0 (C-4'), 135.8 (C-5'), 128.1 (C-6'), 21.6 (C-11), 36.7 (C-12), 144.4 (C-13), 110.6 (C-14), 21.4 (C-15), 56.0 (7-OMe), 55.7 (4'-OMe)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **5** 为 artoindonesianin S。

化合物 **6**: 黄色无定形粉末 (甲醇)。C₂₅H₂₆O₆, ESI-MS m/z : 421.2 [M-H]⁻。喷 10% 硫酸乙醇溶液并加热显黄绿色; 喷 5% 三氯化铁乙醇溶液显墨绿色。 ^1H -NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.06 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.70 (1H, dd, $J = 16.2, 7.3$ Hz, H-17), 6.57 (1H, brd, $J = 16.2$ Hz, H-16), 6.42 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-3'), 6.41 (1H, dd, $J = 8.4, 1.5$ Hz, H-5'), 6.31 (1H, s, H-8), 5.09 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-12), 3.09 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-11), 2.43 (1H, m, H-18), 1.59 (3H, s, H-14), 1.39 (3H, s, H-15), 1.10 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-19, 20); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 163.2 (C-2), 121.7 (C-3), 183.8 (C-4), 160.5 (C-5), 109.7 (C-6), 163.3 (C-7), 93.9 (C-8), 157.7 (C-9), 105.1 (C-10), 113.4 (C-1'), 157.6 (C-2'), 103.7 (C-3'), 161.9 (C-4'), 107.9 (C-5'), 132.6 (C-6'), 24.9 (C-11), 122.9 (C-12), 132.4 (C-13), 25.7 (C-14), 17.6 (C-15), 117.6 (C-16), 142.3 (C-17), 34.4 (C-18), 23.3 (C-19, 20)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **6** 为 norartocarpin。

4 体外抗炎活性评价^[19]

取对数生长期 RAW264.7 细胞, 用 DMEM 高糖完全培养基稀释成 2×10^5 个/mL 浓度的细胞悬浮液, 接种到 96 孔细胞培养板中, 每孔 100 μL 。置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 备用。待测化合物用 DMEM 高糖完全培养基用二倍稀释法配制一系列不同浓度 (100.00~1.56 $\mu\text{mol/L}$) 的工作液, 每个浓度设 3 个复孔。待测药液作用细胞 1 h 后, 加入终浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h 后, 采用 Griess 法测定细胞培养上清液中 NO 浓度, 采用 MTT 法测定细胞活力, 分别计算各浓度待测

化合物对 RAW264.7 细胞释放 NO 的抑制率和 RAW264.7 细胞的存活率。

采用 Graphpad Prism7 软件计算各化合物抑制 RAW264.7 细胞释放 NO 的半数抑制浓度 (IC₅₀)。

$$\text{NO 释放抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{对照}})$$

$A_{\text{模型}}$ 为加 LPS 诱导处理细胞组的平均吸光度值; $A_{\text{样品}}$ 为 LPS 诱导处理且加入待测药物组的平均吸光度值; $A_{\text{对照}}$ 为仅含 DMEM 高糖完全培养和 Griess 试剂组的平均吸光度值

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{样品}} / A_{\text{对照}}$$

$A_{\text{样品}}$ 为加入待测药物组的平均吸光度值; $A_{\text{对照}}$ 为仅含 DMEM 高糖完全培养和 MTT 组的平均吸光度值

结果显示, 化合物 **1**、**3**、**4** 能不同程度地抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO, 其中化合物 **1** 和 **3** 的活性优于阳性药布洛芬 [IC₅₀ = (48.4 $\pm$ 5.2) $\mu\text{mol/L}$], 且在 100 $\mu\text{mol/L}$ 时对 RAW264.7 细胞的生长没有明显抑制作用 (表 2)。

表 2 化合物 1~6 抑制 RAW264.7 释放 NO 的 IC₅₀ 及不影响 RAW264.7 细胞活力的最高浓度

Table 2 Effects of compounds 1—6 on NO release from LPS-stimulated RAW264.7 cells and cell viability

化合物	抑制 NO 释放 IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	不影响细胞活力最高浓度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	9.0 $\pm$ 1.2	>100
2	>100	>100
3	19.4 $\pm$ 3.5	>100
4	24.6 $\pm$ 5.7	50
5	>100	>100
6	>100	25
布洛芬	48.4 $\pm$ 5.2	>100

5 讨论

波罗蜜属植物是异戊烯基黄酮类成分的一个重要来源之一^[20], 因为该类成分具有广泛的生理活性, 波罗蜜属植物广受药理和天然药物化学工作者的关注。在前期工作基础上, 本研究继续对波罗蜜的根进行了化学成分研究, 从中分离鉴定了 6 个异戊烯基黄酮衍生物, 其中 1 个化合物为新化合物, 3 个化合物为首次从波罗蜜属中分离得到, 1 个为首次从波罗蜜中分离得到。自然界发现的黄酮类天然产物, 其 B 环的氧化取代类型具有一定的规律性, 可归纳为 4'-单氧化取代、2',4'-二氧化取代、3',4'-二氧化取代及 2',4',5'-三氧化取代等几种主要的形式。值得注意的是, 本研究获得的化合物 **1** 和 **2** 拥

有 2',4',6'-三氧化取代的 B 环,这是一种不常见的 B 环氧化取代类型。本研究结果进一步丰富了异戊烯基黄酮类成分的化学结构多样性。除化合物 **5** 外,本研究获得的已知化合物被报道具有多种生物活性,如抗疟^[21](化合物 **2**)、抑制黑色生成^[22](化合物 **3**)、抗菌^[23](化合物 **3**)、细胞毒性^[16](化合物 **4**、**6**)。鉴于波罗蜜具有消肿解毒的功效,本研究测试了所分离化合物的抗炎活性。结果表明,化合物 **1** 和 **3** 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO 具有较强的抑制活性。本活性测试结果拓展了人们对波罗蜜植物中异戊烯基黄酮的生物活性多样性的认识,并获得了 2 个具有潜在药用价值的化合物,为后期深入的药效与机制研究提供了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 明·李时珍. 本草纲目(下册): 刘衡如校点本 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 1839-1840.
- [2] 贾敏如. 中国民族药辞典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 88.
- [3] Hano Y, Artonins A and B, two new prenylflavones from the root bark of *Artocarpus heterophyllus* Lamk. [J]. *Heterocycles*, 1989, 29(8): 1447-1453.
- [4] Yu M H, Zhao T, Yan G R, et al. New isoprenylated flavones and stilbene derivative from *Artocarpus hypargyreus* [J]. *Chem Biodivers*, 2012, 9(2): 394-402.
- [5] Wang X L, Di X X, Shen T, et al. New phenolic compounds from the leaves of *Artocarpus heterophyllus* [J]. *Chin Chem Lett*, 2017, 28(1): 37-40.
- [6] Zheng Z P, Xu Y, Qin C, et al. Characterization of antiproliferative activity constituents from *Artocarpus heterophyllus* [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(24): 5519-5527.
- [7] Ren G, Gan L S, Zhu L Z, et al. (±)-heterocageflavone, anti-inflammatory isoprenylated flavonoids with a tricyclo[5.3.1.0^{3,8}]undecane moiety from *Artocarpus heterophyllus* [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 123: 105742.
- [8] Fu Y H, Guo J M, Xie Y T, et al. Prenylated chromones from the fruits of *Artocarpus heterophyllus* and their potential anti-HIV-1 activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(7): 2024-2030.
- [9] Ren G, Peng J B, Liu A H, et al. Structure elucidation and NMR assignments of two new flavanones from the roots of *Artocarpus heterophyllus* [J]. *Magn Reson Chem*, 2015, 53(10): 872-874.
- [10] Nguyen N T, Nguyen M H, Nguyen H X, et al. Tyrosinase inhibitors from the wood of *Artocarpus heterophyllus* [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(11): 1951-1955.
- [11] Iinuma M, Ohyama M, Tanaka T, et al. Three 2', 4', 6'-trioxygenated flavanones in roots of *Echinosophora koreensis* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(2): 665-669.
- [12] Bourjot M, Apel C, Martin M T, et al. Antiplasmodial, antitrypanosomal, and cytotoxic activities of prenylated flavonoids isolated from the stem bark of *Artocarpus styracifolius* [J]. *Planta Med*, 2010, 76(14): 1600-1604.
- [13] 丁淇, 支银娥, 王珊, 等. 岗松中二氢黄酮的分离、绝对构型的确定及细胞毒活性 [J]. 昆明医科大学学报, 2021, 42(6): 56-61.
- [14] Lu C M, Lin C N. Two 2', 4', 6'-trioxygenated flavanones from *Artocarpus heterophyllus* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(4): 909-911.
- [15] Wenkert E, Gottlieb H E. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of flavonoid and isoflavonoid compounds [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16(11): 1811-1816.
- [16] Syah Y M, Juliawaty L D, Achmad S A, et al. Cytotoxic prenylated flavones from *Artocarpus champeden* [J]. *J Nat Med*, 2006, 60(4): 308-312.
- [17] Syah Y M, Achmad S A, Ghisalberti E L, et al. Artoindonesianins Q-T, four isoprenylated flavones from *Artocarpus champeden* spreng. (Moraceae) [J]. *Phytochemistry*, 2002, 61(8): 949-953.
- [18] Wang Y H, Hou A J, Chen L, et al. New isoprenylated flavones, artochamins A: E, and cytotoxic principles from *Artocarpus chama* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(5): 757-761.
- [19] Huang Z, Zhu Z X, Li Y T, et al. Anti-inflammatory labdane diterpenoids from *Leonurus macranthus* [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(9): 2276-2285.
- [20] Jagtap U B, Bapat V A. *Artocarpus*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 129(2): 142-166.
- [21] Widyawaruyanti A, Subehan, Kalauni S K, et al. New prenylated flavones from *Artocarpus champeden*, and their antimalarial activity *in vitro* [J]. *J Nat Med*, 2007, 61(4): 410-413.
- [22] Chaita E, Lambrinidis G, Cheimonidi C, et al. Anti-melanogenic properties of Greek plants. A novel depigmenting agent from *Morus alba* wood [J]. *Molecules*, 2017, 22(4): E514.
- [23] Sohn H Y, Son K H, Kwon C S, et al. Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai [J]. *Phytomedicine*, 2004, 11: 666-672.

[责任编辑 王文倩]