

构棘枝叶中化学成分及其抗类风湿性关节炎活性研究

张明明¹, 汪钰善¹, 饶有娣¹, 吴文慧¹, 景佳楠¹, 胡佳怡¹, 刘叶萍¹, 刘艳萍^{1,2,4*}, 付艳辉^{1,2,3*}

1. 海南师范大学 热带药用资源化学教育部重点实验室, 海南 海口 571126

2. 海南师范大学 南药资源产业化关键技术研究海南省工程研究中心, 海南 海口 571126

3. 海南师范大学 南药资源产业化关键技术研究海口市重点实验室, 海南 海口 571126

4. 海南师范大学 热带果蔬研究与开发海口市重点实验室, 海南 海口 571158

摘要: 目的 研究桑科植物构棘 *Maclura cochinchinensis* 中化学成分及其抗类风湿性关节炎活性研究。方法 综合运用硅胶柱色谱、ODS 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱以及制备型 HPLC 等色谱分离纯化技术进行系统分离和纯化, 根据分离得到化合物的理化性质及其波谱数据, 并通过与文献比较, 鉴定化合物的结构; 通过体外抑制滑膜细胞增殖的活性测试评价其抗类风湿性关节炎活性。结果 从构棘枝叶 90%乙醇提取物中分离得到了 16 个化合物, 分别鉴定为 pangelin (1)、oxypeucedanin hydrate (2)、smyrindiol (3)、isooxypeucedanin (4)、buddlenol A (5)、buddlenol E (6)、cedrusin (7)、curcasinlignan B (8)、3',4'-O-dimethylcedrusin (9)、pinnatifidanin CI (10)、杜仲树脂酚 (11)、丁香脂素 (12)、2,2'-氧代双(1,4-二叔丁基) (13)、zanthopyranone (14)、对羟基苯甲醛 (15)、1-(4-羟基-苯基)-乙酮 (16)。对分离鉴定的化合物 1~16 的抑制滑膜成纤维细胞增殖活性研究评价结果表明, 化合物 1~4 对滑膜成纤维细胞 MH7A 增殖抑制活性的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值为 (5.08±0.16)~(23.47±0.12) μmol/L。结论 化合物 1~7、9~11、14 和 16 为首次从橙桑属植物中分离得到, 化合物 1~4 表现出较为显著的抗类风湿性关节炎活性。

关键词: 构棘; 香豆素; 木脂素; 酚酸; 抗类风湿性关节炎活性; 杜仲树脂酚; 1-(4-羟基-苯基)-乙酮; pangelin; smyrindiol

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)10-3248-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.10.004

Chemical constituents from stems and leaves of *Maclura cochinchinensis* and their anti-rheumatoid arthritis activities

ZHANG Mingming¹, WANG Xishan¹, YAO Youdi¹, WU Wenhui¹, JING Jianan¹, HU Jiayi¹, LIU Yeping^{1,2}, LIU Yanping^{1,2,4}, FU Yanhui^{1,2,3}

1. Key Laboratory of Tropical Medicinal Resource Chemistry of Ministry of Education, Hainan Normal University, Haikou 571126, China

2. Engineering Research Center for Industrialization of Southern Medicinal Plants Resources of Hainan Province, Hainan Normal University, Haikou 571126, China

3. Key Laboratory of Southern Medicinal Plants Resources of Haikou City, Hainan Normal University, Haikou 571126, China

4. Key Laboratory of Research and Development of Tropical Fruit and Vegetable of Haikou City, Hainan Normal University, Haikou 571158, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the stems and leaves of Gouji (*Maclura cochinchinensis*.) and their anti-rheumatoid arthritis activities. **Methods** The chemical constituents from the stems and leaves of *M. cochinchinensis* were isolated and purified by means of silica gel, ODS, Sephadex LH-20 gel column chromatographies and preparative HPLC. Their

收稿日期: 2024-02-06

基金项目: 海南省重点研发专项 (ZDYF2022SHFZ028); 海南省重点研发专项 (ZDYF2024SHFZ145); 海南省重点研发专项 (ZDYF2024XDNY148); 海南省自然科学基金项目 (222RC655); 国家自然科学基金项目 (32070390); 国家自然科学基金项目 (22067005); 国家自然科学基金项目 (21967008); 海口市重点研发计划项目 (2017050); 海口市重点研发计划项目 (2020054)

作者简介: 张明明, 男, 在读研究生, 主要从事天然活性物质的发现与应用研究工作。E-mail: zhangmm402@163.com

***通信作者:** 付艳辉, 教授, 博士生导师, 主要从事天然活性物质的发现与应用研究工作。E-mail: fuyanhuai80@163.com

刘艳萍, 研究员, 硕士生导师, 主要从事天然活性物质的发现及其作用机制研究工作。E-mail: liuyanpings@163.com

chemical structures were identified by means of physicochemical properties, spectroscopic analysis, as well as the comparisons with the data reported in literature. Moreover, all isolated compounds were evaluated for their anti-rheumatoid arthritis activities using MTS method, on the basis of measuring their anti-proliferative activities on synoviocytes *in vitro*. **Results** A total of 16 compounds were isolated from the 90% ethanol extract of the stems of *M. cochinchinensis*, which were identified as pangelin (1), oxypeucedanin hydrate (2), smyrindiol (3), isooxypeucedanin (4), buddlenol A (5), buddlenol E (6), cedrusin (7), curcasinlignan B (8), 3',4'-O-dimethylcedrusin (9), pinnatifidanin C I (10), medioresinol (11), syringaresinol (12), 2,2'-oxybis (1,4-di-tert-butylbenzene) (13), zanthopyranone (14), *p*-hydroxybenzaldehyde (15), and 1-(4-hydroxyphenyl)-ethanone (16). Compounds 1—4 exhibited the inhibitory effects on the proliferation of MH7A synovial fibroblast cells with the IC₅₀ values in range of (5.08±0.16) — (23.47±0.12) μmol/L. **Conclusion** Compounds 1—7, 9—11, 14 and 16 were isolated from the genus *Maclura* for the first time, compounds 1—4 displayed notable anti-rheumatoid arthritis activities.

Key words: *Cudrania cochinchinensis* (Lour.) Kudo et Masam.; coumarins; lignans; phenolic acids; anti-rheumatoid arthritis activities; medioresinol; 1-(4-hydroxyphenyl)-ethanone; pangelin; smyrindiol

桑科 (Moraceae) 柘属 *Cudrania* Trec. 植物全世界有 12 种, 分布于亚洲热带和亚热带地区, 南北美洲, 非洲东部至东南部, 马达加斯加, 澳大利亚以及太平洋岛屿。橙桑属植物中含有大量多异戊烯基取代黄酮类、氧杂蒽酮类和二苯甲酮类化合物, 这些多异戊烯基取代黄酮类、氧杂蒽酮类和二苯甲酮类化合物类化合物表现出了广泛而显著的生物活性, 如抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗真菌、抗菌、降糖和神经保护活性等生物活性, 因此, 一直是天然药物化学学科的研究热点之一^[1-12]。构棘 *Cudrania cochinchinensis* (Lour.) Kudo et Masam. 为桑科橙桑属植物, 主要分布于我国的东南部至西南部的亚热带地区, 为民间常用药用植物, 具有止咳化痰、祛风利湿、散瘀止痛等功效, 常用于治疗风湿筋骨痛、跌打损伤、腰肌劳损、贫血头晕、四肢麻木、月经不调等症。药用历史悠久, 疗效显著。为了阐明构棘的药效物质基础, 同时为了更合理地开发利用该植物资源, 充分发挥构棘的药用价值, 本研究对构棘枝叶的 90% 乙醇提取物中的化学成分进行了系统研究, 从中分离得到了 16 个化合物, 分别鉴定为 pangelin (1)、oxypeucedanin hydrate (2)、smyrindiol (3)、isooxypeucedanin (4)、buddlenol A (5)、buddlenol E (6)、cedrusin (7)、curcasinlignan B (8)、3',4'-O-dimethylcedrusin (9)、pinnatifidanin C I (10)、杜仲树脂酚 (medioresinol, 11)、丁香脂素 (syringaresinol, 12)、2,2'-氧代双 (1,4-二叔丁苯) [2,2'-oxybis (1,4-di-tert-butylbenzene), 13]、zanthopyranone (14)、对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenzaldehyde, 15)、1-(4-羟基-苯基)-乙酮 [1-(4-hydroxyphenyl)-ethanone, 16]。化合物 1~7、9~11、14 和 16 为首次从橙桑属植物中分离得到。此

外, 采用 MTS 法对分离鉴定的化合物进行了体外抑制滑膜细胞增殖活性测试, 评价了所有分离得到的化合物的抗类风湿性关节炎活性。活性评价结果表明, 化合物 1~4 表现出了较为显著的抗类风湿性关节炎活性, 它们对滑膜成纤维 MH7A 细胞增殖抑制活性的 IC₅₀ 值为 (5.08±0.16) ~ (23.47±0.12) μmol/L。

1 仪器与材料

Finnigan LCQ Advantage MAX 型 MS 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Bruker AV-400 型 NMR 波谱仪 (德国 Bruker 公司); Sepacore 型中低压制备色谱 (瑞士 Buchi 公司); Agilent1200 分析型 HPLC 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); UltiMate 3000 制备型 HPLC 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Waters XBridge C₁₈ 分析型 HPLC 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm, 美国 Waters Technologies 公司) 和 Waters XBridge C₁₈ 制备型 HPLC 色谱柱 (250 mm×20 mm, 5 μm, 美国 Waters Technologies 公司); N-1001 型旋转蒸发仪 (日本 EYELA 株式会社); Sephadex LH-20 凝胶 (美国 amersham biosciences 公司); 反相硅胶色谱材料 (德国 Merck 集团); 薄层硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); YOKO-ZX 紫外分析暗箱 (武汉药科新技术开发有限公司); XPR105DR/AC 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); OLYMPUS-IX70 型生物倒置显微镜 (日本 Olympus 株式会社); HERAccl 240i 型 CO₂ 恒温细胞培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Tecan Infinite Pro 型全波长多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 集团公司); BHC-1300B2 型超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); 胰蛋白酶、F12 培养基、胎牛血清、磷酸盐缓冲液和双

抗(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 噻唑蓝(德国 Merck 集团); 所用试剂均为色谱纯或者分析纯试剂(西陇化工股份有限公司); MH7A 滑膜成纤维细胞来源于美国模式培养物集存库 ATCC (American type culture collection) 细胞库, 购自于上海冠导生物工程有限公司。

构棘枝叶于 2020 年 4 月采集于海南省昌江县霸王岭国家森林公园, 经海南师范大学生命科学学院钟琼芯教授鉴定为桑科橙桑属植物构棘 *M. cochinchinensis* (Lour.) Kudo et Masam. 的枝叶, 凭证标本 (HNMACO20200402) 保存于海南师范大学南药资源产业化关键技术研究海南省工程研究中心植物标本室。

2 提取与分离

将阴干的构棘枝叶 15.8 kg 粉碎后用 90%乙醇室温浸泡提取 3 次, 每次室温浸泡 1 周, 合并乙醇提取液, 减压回收乙醇后得总浸膏 0.86 kg。乙醇总浸膏加蒸馏水混悬, 依次用石油醚和醋酸乙酯各萃取 5 次, 减压回收溶剂后得石油醚萃取部位 122.2 g 和醋酸乙酯萃取部位 129.8 g。醋酸乙酯萃取部位 (128.0 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮体系为洗脱剂 (90:10~40:60) 进行梯度洗脱, 得到 8 个流分 Fr. 1~8。Fr. 3 (36.8 g) 经反相硅胶柱色谱分离, 以甲醇-水 (50:50~100:0) 为洗脱剂进行梯度洗脱, 得到 6 个亚流分 (Fr. 3A~3F)。Fr. 3B (5.3 g) 经硅胶柱色谱进行分离, 以石油醚-丙酮 (95:5~45:55) 为洗脱剂进行梯度洗脱, 再经制备型 HPLC 制备 (甲醇-水 69:31) 得到化合物 **1** (39.9 mg)、**2** (25.8 mg)、**4** (4.6 mg) 和 **5** (14.1 mg); Fr. 3C (6.2 g) 经硅胶柱色谱进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (80:20~35:65) 进行梯度洗脱, 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿/甲醇) 纯化后, 再经制备型 HPLC 制备 (乙腈-水 68:32) 得到化合物 **3** (11.3 mg)、**6** (12.5 mg)、**7** (13.2 mg)、**9** (4.5 mg) 和 **10** (3.7 mg); Fr. 4 (38.7 g) 经反相硅胶柱色谱分离, 以甲醇-水 (50:50~100:0) 进行梯度洗脱, 得到 8 个亚流分 (Fr. 4A~4H); Fr. 4B (2.2 g) 经硅胶柱色谱进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯体系为洗脱剂 (70:30~40:60) 进行梯度洗脱, 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿-甲醇) 纯化后, 再经制备型 HPLC 制备 (甲醇-水 78:22) 得到化合物 **8** (1.6 mg)、**11** (4.1 mg)、**12** (18.6 mg)、**13** (8.8 mg) 和 **15** (13.9 mg); Fr. 4C (3.5 g) 经硅胶

柱色谱分离, 以石油醚-丙酮为洗脱剂 (58:42~35:65) 进行梯度洗脱, 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (氯仿-甲醇) 纯化后, 再经制备型 HPLC 制备 (甲醇-水 63:37) 得到化合物 **14** (27.8 mg) 和 **16** (6.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定型粉末; $C_{16}H_{14}O_5$, ESI-MS m/z : 287.1 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.15 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-3), 7.56 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-2'), 7.10 (1H, s, H-8), 6.94 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3'), 6.20 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-2), 5.18 (1H, s, H-4'' α), 5.04 (1H, s, H-4'' β), 4.53 (1H, ddd, $J=9.6, 7.2, 3.6$ Hz, H-2''), 4.45 (1H, dd, $J=9.6, 3.6$ Hz, H-1'' α), 4.38 (1H, dd, $J=9.6, 7.2$ Hz, H-1'' β), 1.81 (3H, s, H-5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.3 (C-2), 158.1 (C-7), 152.7 (C-8a), 148.5 (C-5), 145.2 (C-2'), 143.4 (C-3''), 139.4 (C-4), 114.1 (C-6), 113.4 (C-4''), 112.8 (C-3), 107.3 (C-4a), 104.9 (C-3'), 94.5 (C-8), 75.7 (C-1''), 74.2 (C-2''), 18.8 (C-5'')。以上波谱数据与文献报道的波谱数据基本一致^[13], 故鉴定化合物 **1** 为 pangelin。

化合物 **2**: 白色无定型粉末; $C_{16}H_{16}O_6$, ESI-MS m/z : 305.1 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 8.33 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-4), 7.97 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-9), 7.27 (1H, s, H-8), 6.32 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-10), 6.30 (1H, d, $J=9.8$ Hz, H-3), 4.72 (1H, dd, $J=9.6, 3.6$ Hz, H-1' α), 4.26 (1H, dd, $J=9.6, 7.2$ Hz, H-1' β), 3.64 (1H, ddd, $J=9.6, 7.2, 3.6$ Hz, H-2'), 1.17 (3H, s, H-4'), 1.10 (3H, s, H-5'); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 160.4 (C-2), 157.7 (C-7), 152.2 (C-8a), 149.3 (C-5), 145.9 (C-9), 140.2 (C-4), 113.4 (C-6), 112.1 (C-3), 106.6 (C-4a), 105.6 (C-10), 93.3 (C-8), 76.6 (C-3'), 74.9 (C-2'), 70.9 (C-1'), 27.7 (C-4'), 24.3 (C-5')。以上波谱数据与文献报道的波谱数据基本一致^[14], 故鉴定化合物 **2** 为 oxypeucedanin hydrate。

化合物 **3**: 白色无定型粉末; $C_{14}H_{14}O_5$, ESI-MS m/z : 263.1 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.68 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-4), 7.52 (1H, s, H-5), 6.87 (1H, s, H-8), 6.31 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-3), 5.40 (1H, d, $J=6.2$ Hz, H-3'), 4.36 (1H, d, $J=6.2$ Hz, H-2'), 1.63 (3H, s, H-2''), 1.55 (3H, s, H-3''); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 162.8 (C-7), 161.4 (C-2), 156.7 (C-8a), 144.0 (C-4), 128.3 (C-6), 125.0 (C-5), 113.5 (C-4a), 112.7 (C-3), 99.0 (C-8), 90.8 (C-2'), 73.0 (C-1''), 71.9 (C-3'),

28.3 (C-2''), 25.7 (C-3'')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[15], 故鉴定化合物 **3** 为 smyrindiol。

化合物 **4**: 白色无定型粉末; C₁₆H₁₄O₅, ESI-MS m/z : 287.1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.32 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-4), 7.61 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-3'), 7.18 (1H, s, H-9), 6.84 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2'), 6.32 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-3), 5.09 (2H, s, H-1''), 2.86 (1H, hept, J = 7.0 Hz, H-3''), 1.18 (5H, d, J = 7.0 Hz, H-4'', 5''); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 209.0 (C-2''), 161.1 (C-2), 158.1 (C-8), 152.7 (C-10), 148.0 (C-6), 145.6 (C-2'), 139.4 (C-4), 113.7 (C-7), 113.4 (C-3), 107.6 (C-5), 104.2 (C-3'), 95.2 (C-9), 75.1 (C-1''), 37.5 (C-3''), 18.1 (C-4'', 5'')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[16], 故鉴定化合物 **4** 为 isooxypeucedanin。

化合物 **5**: 棕色油状物, 三氯化铁显色反应阳性; C₃₁H₃₄O₁₁, ESI-MS m/z : 583.2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.63 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-9), 7.41 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7), 7.12 (1H, s, H-6), 7.05 (1H, s, H-2), 6.93 (1H, s, H-2''), 6.85 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-8), 6.81 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5''), 6.73 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6''), 6.68 (2H, s, H-2', 6'), 5.69 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-7'), 4.96 (1H, m, H-7''), 4.11 (1H, m, H-8''), 4.02 (1H, m, H-9' α), 3.95 (1H, m, H-9' β), 3.94 (3H, s, 3-OCH₃), 3.92 (1H, m, H-9'' α), 3.87 (3H, s, 3''-OCH₃), 3.84 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.70 (1H, m, H-8'), 3.49 (1H, m, H-9'' β); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 193.9 (C-9), 154.0 (C-3', 5'), 153.3 (C-7), 151.8 (C-4), 147.1 (C-3''), 145.4 (C-3), 145.3 (C-4''), 137.6 (C-1'), 135.4 (C-4'), 131.7 (C-1''), 129.3 (C-5), 128.9 (C-1), 127.1 (C-8), 119.2 (C-6''), 118.5 (C-6), 114.7 (C-5''), 112.9 (C-2), 109.0 (C-2''), 103.6 (C-6'), 89.2 (C-7'), 87.6 (C-8''), 73.0 (C-7''), 64.5 (C-9'), 61.0 (C-9''), 56.7 (3', 5'-OCH₃), 56.6 (3-OCH₃), 56.5 (5''-OCH₃), 53.6 (C-8')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[17], 故鉴定化合物 **5** 为 buddlenol A。

化合物 **6**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; C₃₁H₃₆O₁₁, ESI-MS m/z : 585.2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.96 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2''), 6.89 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.79 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.73 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.65 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6''), 6.68 (1H, d, J =

8.0 Hz, H-5''), 6.64 (2H, s, H-2, 6), 4.85 (1H, m, H-9), 4.65 (1H, d, J = 4.5 Hz, H-7'), 4.61 (1H, d, J = 4.5 Hz, H-7), 4.45 (1H, d, J = 4.5 Hz, H-7''), 4.28 (1H, m, H-8''), 4.17 (1H, m, H-9 β), 4.15 (1H, m, H-9' α), 3.78 (1H, m, H-9'' α), 3.76 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.75 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.72 (3H, s, 3''-OCH₃), 3.65 (1H, m, H-9'' β), 3.05 (1H, m, H-8'), 3.03 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 152.5 (C-3), 147.5 (C-3'), 146.9 (C-3''), 146.0 (C-4'), 145.3 (C-4''), 137.0 (C-1), 135.3 (C-4), 132.9 (C-1''), 132.2 (C-1'), 119.2 (C-6''), 118.6 (C-6'), 115.2 (C-5'), 114.6 (C-5''), 111.0 (C-2''), 110.5 (C-2'), 103.3 (C-2), 87.0 (C-8''), 85.1 (C-7, 7'), 71.5 (C-7''), 71.2 (C-9), 71.0 (C-9'), 60.2 (C-9''), 56.0 (3, 5-OCH₃), 55.6 (3''-OCH₃), 55.5 (3'-OCH₃), 53.8 (C-8), 53.5 (C-8')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[18], 故鉴定化合物 **6** 为 buddlenol E。

化合物 **7**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; C₁₉H₂₂O₆, ESI-MS m/z : 347.1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.92 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.78 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.52 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-4), 6.48 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.37 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-2), 3.74 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.68 (1H, m, H-3), 3.41 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-1), 3.39 (2H, t, J = 6.8 Hz, H- α), 2.44 (2H, t, J = 6.8 Hz, H- γ), 1.64 (2H, m, H- β); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 147.6 (C-3'), 146.6 (C-4'), 144.7 (C-8), 140.8 (C-7), 134.8 (C-9), 132.6 (C-1'), 129.0 (C-5), 118.7 (C-6'), 115.8 (C-4), 115.3 (C-5'), 114.8 (C-6), 110.4 (C-2'), 86.5 (C-2), 63.2 (C-1), 60.3 (C- α), 55.7 (3'-OCH₃), 53.6 (C-3), 34.7 (C- γ), 31.3 (C- β)。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[19], 故鉴定化合物 **7** 为 cedrusin。

化合物 **8**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; C₁₈H₁₈O₆, ESI-MS m/z : 331.1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.83 (1H, s, H-7'), 7.43 (1H, s, H-6'), 7.40 (1H, s, H-2'), 6.90 (2H, s, H-2, 6), 6.90 (1H, s, H-4), 5.69 (2H, d, J = 7.1 Hz, H-9), 4.01 (1H, m, H-7), 3.95 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 3.72 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 190.7 (C-7'), 154.2 (C-4'), 146.9 (C-3), 146.2 (C-5), 145.3 (C-3'), 132.1 (C-1), 131.6 (C-1'), 128.8 (C-5'), 121.0 (C-6'), 119.7 (C-2), 114.6 (C-4), 112.3 (C-2'), 108.9 (C-6), 89.6 (C-9), 64.0 (C-7), 56.3 (3'-OCH₃),

56.2 (3-OCH₃), 52.9 (C-8)。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[20], 故鉴定化合物 **8** 为 curcasinlignan B。

化合物 **9**: 白色无定型粉末; C₂₁H₂₆O₆, ESI-MS m/z : 375.1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.98 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.95 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-2), 6.83 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.68 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.65 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-6'), 5.56 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-7), 3.98 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-9'), 3.88 (3H, s, 4-OCH₃), 3.86 (3H, s, 3-OCH₃), 3.84 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.69 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-9), 3.61 (1H, m, H-8), 2.66 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-7'), 1.89 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 149.4 (C-3), 149.2 (C-4), 146.8 (C-4'), 144.4 (C-3'), 135.6 (C-1'), 134.0 (C-1), 127.3 (C-5'), 118.9 (C-6), 116.2 (C-6'), 112.8 (C-2'), 111.3 (C-5), 109.7 (C-2), 87.9 (C-7), 64.2 (C-9), 62.5 (C-9'), 56.3 (3'-OCH₃), 56.2 (3-OCH₃), 56.1 (4-OCH₃), 54.0 (C-8), 34.8 (C-8'), 32.2 (C-7')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[21], 故鉴定化合物 **9** 为 3',4-*O*-dimethylcedrusine。

化合物 **10**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; C₂₀H₂₂O₇, ESI-MS m/z : 375.1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.60 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6'), 7.44 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.92 (1H, dd, J = 2.0, 2.0 Hz, H-2), 6.76 (1H, dd, J = 2.0, 2.0 Hz, H-4), 6.74 (1H, dd, J = 2.0, 2.0 Hz, H-6), 5.58 (1H, d, J = 6.8 Hz, H-7), 3.84 (3H, s, 3-OCH₃), 3.77 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-9'), 3.74 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.72 (2H, m, H-9), 3.56 (1H, m, H-8), 3.09 (2H, t, J = 6.8 Hz, H-8'); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 197.3 (C-7'), 152.0 (C-4'), 147.6 (C-3), 146.7 (C-5), 143.5 (C-3'), 131.5 (C-1), 131.0 (C-5'), 129.6 (C-1'), 118.7 (C-6'), 118.5 (C-6), 115.4 (C-4), 112.0 (C-2'), 110.5 (C-2), 88.3 (C-7), 62.7 (C-9), 57.2 (C-9'), 55.7 (3-OCH₃), 55.7 (3'-OCH₃), 52.3 (C-8), 41.1 (C-8')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[22], 故鉴定化合物 **10** 为 pinnatifidanin C I。

化合物 **11**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; C₂₁H₂₄O₇, ESI-MS m/z : 389.1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.90 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.88 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.82 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.58 (2H, s, H-2', 6'), 4.74 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-7), 4.72 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-7'), 4.28 (1H, m,

H-9 α), 4.26 (1H, m, H-9' α), 3.91 (3H, s, 3-OCH₃), 3.90 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.87 (1H, m, H-9 β), 3.86 (1H, m, H-9' β), 3.10 (1H, s, H-8), 3.08 (1H, s, H-8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 147.3 (C-3, 5), 146.9 (C-4'), 145.4 (C-3'), 134.5 (C-1), 133.0 (C-4), 132.3 (C-1'), 119.1 (C-6'), 114.5 (C-5'), 108.8 (C-2'), 102.9 (C-2, 6), 86.3 (C-7), 86.0 (C-7'), 72.0 (C-9), 71.8 (C-9'), 56.5 (3', 5'-OCH₃), 56.1 (3-OCH₃)。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[23], 故鉴定化合物 **11** 为杜仲树脂酚。

化合物 **12**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; C₂₂H₂₆O₈, ESI-MS m/z : 419.2 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.56 (4H, s, H-2, 6, 2', 6'), 4.71 (2H, d, J = 4.0 Hz, H-7, 7'), 4.26 (2H, m, H-9' α , 9' α), 3.90 (2H, m, H-9 β , 9' β), 3.86 (12H, s, 2, 4, 2', 4'OCH₃), 3.08 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 147.3 (C-3', 5'), 134.5 (C-4'), 132.1 (C-1'), 102.9 (C-2, 6, 2', 6'), 86.1 (C-7, 7'), 71.8 (C-9, 9'), 56.4 (3, 5, 3', 5'-OCH₃), 54.4 (C-8, 8')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[24], 故鉴定化合物 **12** 为丁香脂素。

化合物 **13**: 白色无定型粉末; C₂₈H₄₂O, ESI-MS m/z : 395.3 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.54 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-6, 6'), 7.36 (2H, d, J = 2.2 Hz, H-3, 3'), 7.13 (2H, dd, J = 8.4, 2.2 Hz, H-5, 5'), 1.34 (18H, s, H-8~10, 8'~10'), 1.29 (18H, s, H-12~14, 12'~14'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 147.8 (C-2, 2'), 147.2 (C-1, 1'), 138.6 (C-4, 4'), 124.6 (C-3, 3'), 124.1 (C-5, 5'), 119.3 (C-6, 6'), 35.0 (C-7, 7'), 34.7 (C-11, 11'), 31.6 (C-8~10, 8'~10'), 30.4 (C-12~14, 12'~14')。以上波谱数据与文献报道的波谱数据基本一致^[25], 故鉴定化合物 **13** 为 2,2'-氧代双-(1,4-二叔丁苯)。

化合物 **14**: 白色无定型粉末; C₈H₁₀O₄, ESI-MS m/z : 171.1 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.05 (1H, s, H-6), 3.70 (3H, s, 3-OCH₃), 3.64 (3H, s, 5-OCH₃), 2.27 (3H, s, 2-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 169.2 (C-4), 158.3 (C-2), 148.6 (C-5), 143.7 (C-3), 138.9 (C-6), 59.7 (3-OCH₃), 56.8 (5-OCH₃), 14.8 (2-CH₃)。以上波谱数据与文献报道的波谱数据基本一致^[26], 故鉴定化合物 **14** 为 zanthopyranone。

化合物 **15**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; C₇H₆O₂, ESI-MS m/z : 123.0 [M+H]⁺; ¹H-

NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.72 (1H, s, H-7), 7.73 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.88 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3, 5); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 191.6 (C-7), 164.5 (C-4), 132.7 (C-2, 6), 128.4 (C-1), 116.5 (C-3, 5)。以上波谱数据与文献报道的波谱数据基本一致^[27], 故鉴定化合物 **15** 为对羟基苯甲醛。

化合物 **16**: 白色无定型粉末, 三氯化铁显色反应阳性; $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$, ESI-MS m/z : 137.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.90 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2, 6), 6.89 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3, 5), 2.56 (3H, s, H-2'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 197.3 (C-1'), 160.5 (C-4), 131.1 (C-2, 6), 130.5 (C-1), 115.5 (C-3, 5), 26.5 (C-2')。以上波谱数据与文献中报道的波谱数据基本一致^[28], 故鉴定化合物 **16** 为 1-(4-羟基-苯基)-乙酮。

4 抗类风湿性关节炎活性评价^[29-31]

以滑膜成纤维 MH7A 细胞株为活性评价细胞株, 以甲氨蝶呤为阳性对照药物, 采用 MTS 法对分离鉴定的 16 个化合物 (**1**~**16**) 的体外抑制滑膜成纤维 MH7A 细胞增殖的活性进行了测试, 以初步评价这些分离得到的化合物的抗类风湿性关节炎活性, 具体的活性评价实验操作流程和操作方法参考本课题组前期文献报道^[29-31]。

抗类风湿性关节炎活性评价结果表明香豆素类化合物 **1**~**4** 对滑膜成纤维 MH7A 细胞表现出了较为显著的增殖抑制活性, 对滑膜成纤维 MH7A 细胞增殖抑制 IC_{50} 值为 $(5.08 \pm 0.16) \sim (23.47 \pm 0.12)$ $\mu\text{mol/L}$, 木脂素类化合物 **5**~**10** 具有一定的抑制活性, 而化合物 **11**~**16** 未表现出明显的抑制滑膜细胞增殖的活性 ($\text{IC}_{50} > 300.00 \mu\text{mol/L}$)。值得一提的是, 化合物 **1**~**10** 大多表现出了优于阳性对照药物甲氨蝶呤对滑膜成纤维 MH7A 细胞的增殖抑制活性, 提示它们具有显著的体外抗类风湿性关节炎活性, 具体活性评价结果见表 1。

5 讨论

本研究综合运用多种色谱分离方法和波谱鉴定技术对桑科橙桑属植物构棘枝叶的 90%乙醇提取物中的化学成分进行了系统研究, 从中分离鉴定了 16 个化合物, 包括 4 个香豆素类化合物 **1**~**4**、6 个木脂素类化合物 **5**~**12**、3 个酚酸类素类化合物 **13**、**15** 和 **16**、以及 1 个吡喃类化合物 **14**, 其中化合物 **1**~**7**、**9**~**11**、**14** 和 **16** 为首次从桑科橙桑属植物中分离得到。通过对分离得到的化合物 **1**~**16** 的体外抑制 MH7A 滑膜成纤维细胞增殖活性评价发现分

表 1 部分化合物抑制 MH7A 滑膜成纤维细胞增殖的活性 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 1 Inhibitory effects on growth of MH7A synovial fibroblast cells of some compounds ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
1	12.56 ± 0.09	6	89.42 ± 0.13
2	8.32 ± 0.11	7	132.53 ± 0.22
3	5.08 ± 0.16	8	109.65 ± 0.18
4	23.47 ± 0.12	9	218.89 ± 0.21
5	76.98 ± 0.11	10	178.59 ± 0.18
甲氨蝶呤	118.56 ± 0.21		

离鉴定的香豆素类化合物 **1**~**4** 和木脂素类化合物 **5**~**10** 表现出了较为显著的抗类风湿性关节炎活性, 提示香豆素类和木脂素类化合物可能是构棘具有抗类风湿性关节炎作用的药效物质基础, 尤其是以化合物 **1**~**4** 为代表的呋喃型类香豆素类化合物具有更为显著的抗类风湿性关节炎作用。本研究不仅可为新型天然来源的抗类风湿性关节炎新药的开发提供坚实的技术支撑, 而且可为构棘植物资源的合理开发与利用提供重要的科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Jo Y H, Lee S, Yeon S W, *et al.* Anti- α -glucosidase and anti-oxidative isoflavonoids from the immature fruits of *Maclura tricuspidata* [J]. *Phytochemistry*, 2022, 194: 113016.
- [2] Lakornwong W, Kanokmedhakul K, Masranoi J, *et al.* Cytotoxic and antibacterial xanthenes from the roots of *Maclura cochinchinensis* [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(23): 6021-6030.
- [3] Polbuppha I, Suthiphasilp V, Maneerat T, *et al.* Macluracochinones A-E, antimicrobial flavonoids from *Maclura cochinchinensis* (Lour.) Corner [J]. *Phytochemistry*, 2021, 187: 112773.
- [4] Nakashima K I, Tanaka T, Murata H, *et al.* Xanthenes from the roots of *Maclura cochinchinensis* var. *gerontogea* and their retinoic acid receptor- α agonistic activity [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(9): 1998-2001.
- [5] Jung H J, Kim S J, Song Y S, *et al.* Evaluation of the antiangiogenic, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of morin [J]. *Planta Med*, 2010, 76(3): 273-275.
- [6] Orhan I, Şenol F S, Kartal M, *et al.* Cholinesterase inhibitory effects of the extracts and compounds of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider [J]. *Food Chem*

- Toxicol*, 2009, 47(8): 1747-1751.
- [7] Son I H, Chung I M, Lee S I, *et al.* Pomiferin, histone deacetylase inhibitor isolated from the fruits of *Maclura pomifera* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, 17(17): 4753-4755.
- [8] Kupeli E, Orhan I, Toker G, *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auricularin [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 107(2): 169-174.
- [9] Tsao R, Yang R, Young J C. Antioxidant isoflavones in Osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(22): 6445-6451.
- [10] Cioffi G, Escobar L M, Braca A, *et al.* Antioxidant Chalcone glycosides and flavanones from *Maclura (Chlorophora) tinctoria* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(8): 1061-1064.
- [11] ElSohly H N, Joshi A S, Nimrod A C, *et al.* Antifungal chalcones from *Maclura tinctoria* [J]. *Planta Med*, 2001, 67(1): 87-89.
- [12] Groweiss A, Cardellina J H, Boyd M R. HIV-inhibitory prenylated xanthenes and flavones from *Maclura tinctoria* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(11): 1537-1539.
- [13] Stavri M, Mathew K T, Bucar F, *et al.* Pangelin, an antimycobacterial coumarin from *Ducrosia anethifolia* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(10): 956-959.
- [14] Xin X L, Wang Y, Wang G, *et al.* Biotransformation of furanocoumarins by fungi: Preparation of imperation analogs [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(7): 697-707.
- [15] Zou Y F, Lobera M, Snider B B. Synthesis of 2, 3-dihydro-3-hydroxy-2-hydroxylalkylbenzofurans from epoxy aldehydes. one-step syntheses of brosimacutin G, vaginidiol, vaginol, smyrindiol, xanthoarnol, and avicenol A. biomimetic syntheses of angelicin and psoralen [J]. *J Org Chem*, 2005, 70(5): 1761-1770.
- [16] Harker S, Razdan T K, Waight E S. Steroids, chromone and coumarins from angelica officinalis [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(2): 419-426.
- [17] Li L Z, Peng Y, Niu C, *et al.* Isolation of cytotoxic compounds from the seeds of *Crataegus pinnatifida* [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(4): 411-414.
- [18] Nidhal N, Zhou X M, Yi J L, *et al.* Bioactive chemical constituents of *Leucas zeylanica* [J]. *Chem Nat Compd*, 2021, 57(6): 1107-1110.
- [19] Khamidullina E A, Purevdash M, Ushakov I V, *et al.* Phenolic compounds from *Pinus sibirica* shells [J]. *Chem Nat Compd*, 2005, 41(1): 101-102.
- [20] Xu J J, Tana N H. New lignans from *Jatropha curcas* linn [J]. *Z Für Naturforschung B*, 2012, 67(2): 176-180.
- [21] Nguyen T T M, Nguyen T T, Lee H S, *et al.* Neolignan derivatives from the flower of *Magnolia biondii* Pamp. and their effects on IL-2 expression in T-cells [J]. *Nat Prod Sci*, 2017, 23(2): 119.
- [22] Huang X X, Zhou C C, Li L Z, *et al.* Cytotoxic and antioxidant dihydrobenzofuran neolignans from the seeds of *Crataegus pinnatifida* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 91: 217-223.
- [23] 廖金华, 胡旭佳, 苑春茂, 等. 马槟榔果实的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(11): 1780-1784.
- [24] 张亚瑶, 阎雨, 赫军, 等. 月腺大戟化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2023, 58(8): 668-674.
- [25] 黄乐怡, 孙煜铮, 陈倩倩, 等. 白花败酱的化学成分研究 [J]. 中草药, 2021, 52(23): 7088-7095.
- [26] 陈宏降, 陈建伟, 李祥. 三白草根的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53(5): 340-345.
- [27] 仲欢欢, 方诗琦, 陈亚军, 等. 野马追化学成分及其抗炎活性 [J]. 中成药, 2017, 39(2): 329-333.
- [28] 秦玲玲, 胡瀚文, 冯丹, 等. 美花筋骨草化学成分研究 [J]. 中药材, 2018, 41(9): 2101-2104.
- [29] Hua L P, Zhang Y Q, Ye M, *et al.* A new polyoxygenated abietane diterpenoid from the rattans of *Bauhinia championii* (Benth.) Benth [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(21): 2577-2582.
- [30] 张玉琴, 华丽萍, 孙承韬, 等. 龙须藤化学成分及其抗炎风湿性关节炎活性研究 [J]. 中药材, 2018, 41(4): 872-875.
- [31] Hua L P, Zhang Y Q, Ye M, *et al.* Bioactive dibenzofurans from the rattans of *Bauhinia championii* (Benth.) Benth [J]. *Phytochem Lett*, 2018, 24: 154-157.

[责任编辑 王文倩]