

红叶野桐茎中 1 个新的二萜苷类化合物

黄艳^{1,2}, 侯萍², 任晨阳², 潘立卫², 彭柳亭^{2,3}, 甘纯秋^{2,3}, 李俊^{2,3*}

1. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西壮族自治区中医药研究院, 广西 南宁 530022

2. 省部共建药用资源化学与药物分子工程国家重点实验室, 广西师范大学化学与药学学院, 广西 桂林 541004

3. 广西永福罗汉果科技小院/桂林实力科技有限公司, 广西 桂林 541805

摘要: 目的 研究红叶野桐 *Mallotus paxii* 茎的化学成分。方法 采用硅胶、大孔树脂、Sephadex LH-20、ODS 等柱色谱以及半制备液相色谱等现代分离技术进行分离纯化, 并运用 HR-ESI-MS、NMR、CD 等谱学技术鉴定化合物结构。通过测定化合物对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导小鼠 RAW264.7 巨噬细胞释放炎症介质一氧化氮 (NO) 的抑制能力, 评价化合物的抗炎作用; MTT 法测定化合物的细胞毒性。结果 从红叶野桐茎的醋酸乙酯部位中分离鉴定了 7 个二萜类化合物, 分别为 17-羟基闭花木-12,15-二烯-2-酮-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (1)、对映-16α,17-二羟基-贝壳衫-3-酮 (2)、阿贝苦酮 (3)、对映-16β,17-二羟基阿替生烷-3-酮 (4)、圆叶乌柏素 A (5)、野梧桐新素 E (6) 和 2α-hydroxy-19-deoxy-jesromotretol (7)。体外抗炎症活性研究表明, 化合物 3 和 5 对脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中 NO 生成具有显著的抑制作用, 其半数抑制浓度值分别为 28.21、31.73 μmol/L, 且无明显细胞毒性。结论 化合物 1 为 1 个新的二萜苷类化合物, 命名为红叶野桐苷 E。化合物 1~5、7 为首次从野桐属植物中分离得到, 化合物 6 为首次从该植物中分离得到。化合物 3 和 5 具有潜在的抗炎活性。

关键词: 野桐属; 红叶野桐; 二萜; 阿贝苦酮; 圆叶乌柏素 A; 红叶野桐苷 E; 抗炎活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)13-4305-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.13.003

A new diterpenoid glucoside from *Mallotus paxii*

HUANG Yan^{1,2}, HOU Ping², REN Chenyang², PAN Liwei², PENG Liuting^{2,3}, GAN Chunqiu^{2,3}, LI Jun^{2,3}

1. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning 530022, China

2. State Key Laboratory for Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources, Collaborative Innovation Center for Guangxi Ethnic Medicine, School of Chemistry and Pharmaceutical Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China

3. Science and Technology Backyard of *Momordica grosvenori* in Yongfu County, Guangxi/Guilin Shili Science & Technology Co., Ltd., Guilin 541805, China

Abstract: Objective To isolate and identify the chemical constituents from *Mallotus paxii*. **Methods** The compounds were isolated and purified by column chromatography of silica gel, macroporous resin, Sephadex LH-20, ODS, and semi-preparative HPLC. The structures were elucidated via HR-ESI-MS, NMR and CD spectroscopic data interpretation. The inhibitory rates of the isolated compounds against inflammatory cytokine nitric oxide (NO) production in LPS-stimulated mouse RAW264.7 macrophages were used to evaluate the anti-inflammatory activities. The cell viability was examined by the MTT assay. **Results** Seven diterpenoid compounds were isolated from the ethyl acetate of *M. paxii*, and elucidated as 17-hydroxycyclostantha-12,15-dien-2-one-3-O-β-D-glucopyranoside (1), ent-16α,17-dihydroxykauran-3-one (2), abbeokutone (3), ent-16β,17-dihydroxyatisan-3-one (4), triarotundin A (5), mallonicusin E (6), and 2α-hydroxy-19-deoxy-jesromotretol (7). The results of the anti-inflammatory activity experiments *in vitro* showed that compounds 3 and 5 have markedly inhibitory effect on NO in LPS induced RAW264.7 macrophages, with IC₅₀ values of 28.21 and 31.73 μmol/L, respectively, and without obvious cytotoxicity. **Conclusion** Compound 1 was a new diterpenoid glucoside, named mallotenuifo E. Compounds 1—5, 7 were isolated from the genus *Mallotus* for the first time, and

收稿日期: 2024-01-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32060097); 广西中医药多学科交叉创新团队项目 (GZKJ2306)

作者简介: 黄艳 (1987—), 博士, 副研究员, 从事中药化学成分与质量标准研究。E-mail: hy2002-2006@163.com

*通信作者: 李俊 (1964—), 博士生导师, 教授, 从事天然产物化学成分研究。E-mail: lijun9593@gxnu.edu.cn

compound **6** was first discovered from this plant. Compounds **3** and **5** showed potential anti-inflammatory activities.

Key words: *Mallotus* Lour.; *Mallotus paxii* Pamp.; diterpenoid; abbeokutone; triarotundin A; mallotenuifo E; anti-inflammatory activity

红叶野桐 *Mallotus paxii* Pamp. 为大戟科 (Euphorbiaceae) 野桐属 *Mallotus* Lour. 植物, 主要分布于广西、广东、湖南、湖北等地区。野桐属 *Mallotus* Lour. 植物全世界约 140 种, 主要分布于亚洲热带和亚热带地区。我国有 36 种、11 个变种, 主产于南部各省区, 该属中多种植物具有药用功效, 如白背叶的根被用来治疗慢性肝炎等病症, 叶被用于消炎止血等^[1-2]; 粗糠柴的根能去热利湿, 用来治疗痢疾、咽喉肿痛和外伤出血等^[3-4]; 石岩枫根、茎及叶入药, 可祛风湿、消肿止痛、治风湿痹痛、偏坠肿痛、跌打损伤、乳痈、口眼喎斜、散血解表^[5]。红叶野桐用于清热解毒、收敛止血、消肿和平肝^[6], 现代药理研究表明其成分异戊烯基二氢黄酮类衍生物具有较好的抗菌活性^[7]。文献研究发现, 萜类化合物是野桐属植物的主要化学成分, 其中二萜类物质是野桐属植物的主要活性成分, 目前该属植物中已鉴定出的二萜类化合物有 26 种, 部分化合物显示了良好的抗炎和抗菌等生物活性^[8-14]。

在前期研究中, 课题组发现红叶野桐叶醋酸乙酯部位具有抗炎活性^[7,14-16], 为进一步充分开发和利用红叶野桐, 探寻二萜类抗炎活性物质基础, 继续对红叶野桐的醋酸乙酯部位的化学成分进行挖掘, 从中分离得到 7 个二萜类化合物, 分别鉴定为 17-羟基闭花木-12,15-二烯-2-酮-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (17-hydroxycleistantha-12,15-dien-2-one-3-*O*- β -D-glucopyranoside, **1**)、对映-16 α ,17-二羟基-贝壳杉-3-酮 (*ent*-16 α ,17-dihydroxykauran-3-one, **2**)、阿贝苦酮 (abbeokutone, **3**)、对映-16 β ,17-二羟基阿替生烷-3-酮 (*ent*-16 β ,17-dihydroxyatisan-3-one, **4**)、圆叶乌柏素 A (triarotundin A, **5**)、野梧桐新素 E (mallonicusin E, **6**) 和 2 α -hydroxy-19-deoxy-jesromotetrol (**7**)。其中化合物 **1** 为新的二萜苷类化合物, 命名为红叶野桐苷 E。化合物 **1**~**5**、**7** 为首次从野桐属植物中分离得到, 化合物 **6** 为首次从该植物中分离得到。体外抗炎活性测试结果表明, 化合物 **3** 和 **5** 对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导 RAW264.7 巨噬细胞中一氧化氮 (NO) 产生具有显著的抑制作用, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 28.21、31.73 μ mol/L, 且无明显细胞毒性, 具有潜在的抗炎活性。

1 仪器与材料

1260 型半制备 HPLC (美国 Agilent 公司); 2695 分析型 HPLC (美国 Waters 公司); 安捷伦 6545 Q-TOF LC-MS (美国 Agilent 公司) 和 Thermo Scientific™ Q Exactive Focus LC-MS (美国 Thermo 公司); DRX-400M、600M NMR (瑞士布鲁克公司); LC-3000 Semi-preparative HPLC (北京创新恒通); 日本岛津 UV2550-紫外-可见分光光度计; TENSOR27 红外光谱仪 (KBr 压片法); J-180 型圆二色光谱仪 (日本 Jasco 公司); SK8200H 型超声波清洗仪 (上海科导公司); Rigaku D/max 2500Pc 单晶衍射仪 (日本理学公司); JASCO P-2000 型旋光计 (日本 Jasco 公司); Multiskan MK3 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司); 96 孔细胞培养板 (美国 Corning 公司); 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 移液器 (德国 Eppendorf 公司); 台式微量离心机 (美国 Thermo 公司)。薄层色谱、柱色谱用硅胶 (青岛海洋化工有限公司), 葡聚糖 LH-20 (瑞典 GE Healthcare), RP-C₁₈ (加拿大 silicycle), MCI (日本三菱化学株式会社)。色谱纯乙腈和甲醇 (美国 Fisher 公司), 其余试剂均为 AR 级。磷酸盐缓冲液 (PBS)、胎牛血清 (FBS)、DMEM 培养基 (美国 Gibico 公司); LPS、MTT、Griess 试剂 (美国 Sigma-Aldrich 公司); 地塞米松 (批号 38633, 美国 MedChemExpress 公司)。

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 RAW264.7 购于中国科学院上海生科院细胞资源中心。

红叶野桐于 2021 年 8 月采自广西桂林, 由广西中医药研究院黄云峰主任药师鉴为红叶野桐 *Mallotus paxii* Pamp.。植物标本 (ID-202108211) 存放于广西师范大学化学与药学学院的“药用资源化学与药物分子工程”省部共建国家重点实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

干燥的红叶野桐茎 (19.1 kg) 用 95% 乙醇水浸泡, 并在提取罐内加热回流提取 3 次, 每次 3 h, 提取液通过减压浓缩罐浓缩, 得浓缩的粗浸膏 (584.0 g)。将浸膏用水分散, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取, 得到石油醚萃取物 (79.2 g)、醋酸乙酯萃取物 (111.5 g)、正丁醇萃取物 (192.1 g)

和水提取物 (201.2 g)。

醋酸乙酯提取物 (111.5 g) 经过大孔树脂柱色谱, 使用水-甲醇 (70:30、50:50、30:70、0:100) 梯度洗脱, 得到 Fr. A (16.7 g)、Fr. B (22.4 g)、Fr. C (47.4 g)、Fr. D (11.2 g) 4 个组分。Fr. B (22.4 g) 通过 MCI 柱色谱进行分离, 使用水-甲醇 (70:30、60:40、50:50、40:60、20:80、0:100) 梯度洗脱, 得到 6 个组份 Fr. B.1~B.6。Fr. B.2 (4.7 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 用二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 分离得到 Fr. B.2.1~B.2.7。Fr. B.2.4 (349.0 mg) 经半制备型 HPLC 进行制备纯化 (乙腈-水 16:84) 得化合物 **1** ($t_R=22.2$ min, 4.9 mg)、**2** ($t_R=30.2$ min, 18.4 mg) 和 **3** ($t_R=33.9$ min, 26.4 mg)。Fr. B.2.5 (226.0 mg) 经半制备型 HPLC 进行制备纯化 (乙腈-水 12:88) 得化合物 **4** ($t_R=11.6$ min, 3.7 mg)、**5** ($t_R=17.4$ min, 8.9 mg)、**6** ($t_R=23.2$ min, 11.4 mg) 和 **7** ($t_R=29.9$ min, 10.2 mg)。

2.2 化合物 1 的酸水解及糖的鉴定

化合物 **1** 的酸水解是参照文献报道的方法进行操作^[17-19]。将化合物 **1** 点样在硅胶薄层色谱 (TLC) 板上, 置于装有浓盐酸的密闭容器中, 室温 HCl 蒸气水解 30 min, 取出薄层色谱板, 室温晾至无酸味, 将葡萄糖标准品点样在同一硅胶 TLC 板上, 二氯甲烷-甲醇-水-冰醋酸 (3.5:1.5:3 滴:3 滴) 展开, 邻苯二甲酸苯胺显色, 结果表明化合物 **1** 酸水解产物中的糖为 D-葡萄糖 (Rf 值为 0.37)^[20]。

2.3 化合物的抗炎活性筛选

本研究采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞建立体外细胞炎症模型对分离得到的化合物活性进行测试, 细胞培养和体外 NO 测定参照本课题组先前报道的方法^[13-14]进行。

2.3.1 MTT 法测定化合物的细胞毒性实验 将 RAW264.7 细胞以 1×10^5 个/孔、180 μL /孔接种在 96 孔板中。孵育过夜后, 用 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 10 μL 刺激细胞 2 h, 把不同浓度的阳性对照和不同浓度的化合物各 10 μL 加入孔板, 设定 3 个复孔。于 37 $^\circ\text{C}$ 培养 24 h。往每孔里加 10 μL MTT 溶液, 在 37 $^\circ\text{C}$ 培养 4 h。然后弃掉上清液, 每孔加入 150 μL DMSO, 震荡 10 min, 完全溶解甲臞; 计算细胞存活率。

2.3.2 Griess 法测定 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞 NO 的含量 RAW264.7 细胞的培养与“2.3.1”项相同。96 孔板换成 24 孔板, 细胞加入体积和加药量体积比原来扩大 4 倍即可。用 LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

诱导 24 h 后, 收集细胞培养上清液, 按照 NO 的试剂盒测试步骤进行检测, 根据抑制率和浓度的关系计算 IC₅₀。

$$\text{NO 抑制率} = (\text{ALPS} - A_{\text{药物}}) / (\text{ALPS} - A_{\text{空白}})$$

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, 易溶于甲醇等有机溶剂。 $[\alpha]_D^{25} +56.7$ (c 0.1, MeOH), UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 280, 240; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 436 (-OH), 1 632 (双键), 1 384 (C-O); ECD [μ_{max} ($\Delta\epsilon$): 240 (1.4) nm。根据其 HRESIMS 给出的准分子离子峰 m/z 503.261 8 [$\text{M} + \text{H}$]⁺ (calcd for C₂₆H₄₀O₈Na, 503.262 1), 并结合分析 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 可以推断该化合物的分子式为 C₂₆H₄₀O₈, 不饱和度为 7。

化合物 **1** 的 ¹H-NMR 谱 (表 1) 显示在低场区有 4 个烯氢 δ_{H} 6.12 (1H, d, $J = 5.8$ Hz), 5.55 (1H, m) 和 δ_{H} 5.20 (2H, m), 说明有 2 个双键; 1 个连氧的亚甲基 δ_{H} 4.34 (2H, m); 1 个连氧的次甲基 δ_{H} 4.64 (1H, s); 3 个甲基 δ_{H} 1.31 (3H, s), 0.87 (3H, s), 0.80 (3H, s); 还有 1 个葡萄糖端基氢信号 δ_{H} 4.89 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)。化合物 **1** 的 ¹³C-NMR 和 HSQC 谱显示其结构中有 26 个碳信号, 包括 1 个羰基信号 δ_{C} 211.2、4 个烯碳信号 (δ_{C} 141.8、138.6、121.5 和 117.5)、1 个连氧的亚甲基信号 (δ_{C} 89.1)、1 个连氧的次甲基信号 (δ_{C} 65.0)、3 个甲基信号 (δ_{C} 29.4、18.3、14.9) 和 1 个葡萄糖信号 (δ_{C} 104.7、76.4、79.0、72.0、79.4、63.4)。结合分子式, 除 1 个葡萄糖基的碳外, 还剩下 20 个碳, 初步推断该化合物为二萜苷类化合物。

分析化合物 **1** 的 1D 和 2D-NMR 数据, 发现化合物的苷元部分与 3 β ,17-dihydroxycyclostantha-12,15-dien-2-one^[21] 一致, 确定化合物 **1** 为二萜 3 β ,17-dihydroxycyclostantha-12,15-dien-2-one 的苷类化合物, 二者不同之处在于, 化合物 **1** 多了 1 个葡萄糖基。根据葡萄糖基端基质子的偶合常数 ($J_{\text{H-1}'} = 7.8$ Hz) 可确定其相对构型为 β 构型。将化合物 **1** 进行酸水解及与对照品比对, 确定葡萄糖基绝对构型为 D 型。在化合物 **1** 的 HMBC 谱中, H-1' 与 C-3 存在相关 (图 1), 表明葡萄糖基连接在 C-3 位。综合以上分析, 确定了化合物 **1** 的平面结构 (图 2)。

化合物 **1** 的相对构型通过 NOESY 谱来确定。由 NOESY 谱图可知, H-8/H-14/H-19/H-20 相关, 说明这些氢在同一侧; H-3/H-5/H-9/H-18 相关, 说明这些氢在另一侧 (图 1)。为进一步确定化合物 **1** 的绝对构型, 采取量子化学计算的方法 [B3LYP-6-31G

表1 化合物1的¹H-和¹³C-NMR数据(600/150 MHz, pyridine-*d*₅)Table 1 ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopic data for compound 1 (600/150 MHz, pyridine-*d*₅)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1	2.27 (d, $J = 12.0$ Hz), 2.29 (d, $J = 12.0$ Hz)	53.2
2		211.2
3	4.64 (s)	89.1
4		45.5
5	1.53 (m)	54.6
6	1.56 (m), 1.25 (m)	22.0
7	2.08 (d, $J = 13.4$ Hz), 0.87 (m)	33.5
8	1.24 (m)	37.4
9	1.24 (m)	50.4
10		43.8
11	1.79 (m), 1.86 (m)	24.6
12	6.12 (d, $J = 5.8$ Hz)	121.5
13		138.6
14	2.59 (t, $J = 8.6$ Hz)	51.6
15	5.55 (m)	141.8
16	5.20 (m)	117.5
17	4.34 (m)	65.0
18	1.31 (s)	29.4
19	0.87 (s)	18.3
20	0.80 (s)	14.9
1'	4.89 (d, $J = 7.8$ Hz)	104.7
2'	4.16 (m)	76.4
3'	4.25 (m)	79.0
4'	4.25 (m)	72.0
5'	3.92 (m)	79.4
6'	4.63 (m), 4.40 (m)	63.4

(d, p), MeOH], 计算了2种可能的绝对构型的理论CD谱, 并分别与实测的CD谱进行比较(图3), 确定化合物的绝对构型为3*R*,5*R*,8*R*, 9*S*,10*R*,14*R*。综合以上波谱分析, 确定化合物1为17-羟基闭花木-12,15-二烯-2-酮-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。经数据库检索发现化合物1为未报道过的新化合物, 命名为红叶野桐苷E。

化合物2: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 321.241 8 [M+H]⁺ (calcd for C₂₀H₃₃O₃, 321.243 0)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 3.33 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-17), 3.21 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-17), 2.37 (1H, m, H-2), 2.01 (1H, m, H-11), 1.98 (1H, m, H-13), 1.94 (1H, m, H-1), 1.87 (1H, dd, $J = 1.9, 12.2$ Hz, H-14), 1.76 (1H, m, H-12), 1.50 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-11), 1.42 (1H, m, H-12), 1.39 (1H, m, H-5), 1.38 (1H, m, H-7), 1.37 (1H, m, H-6), 1.35 (1H, m, H-1), 1.34 (1H, m, H-15), 1.31 (1H, m, H-15), 1.12 (1H, brd, $J = 8.3$ Hz, H-9), 1.01 (1H, m, H-14), 1.00 (3H, s, 20-CH₃), 0.95 (3H, s, 18-CH₃), 0.92 (3H, s, 19-CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 40.5 (C-1), 35.0 (C-2), 221.0 (C-3), 48.2 (C-4), 55.5 (C-5), 22.3 (C-6), 42.0 (C-7), 44.6 (C-8), 57.2 (C-9), 39.7 (C-10), 20.2 (C-11), 27.8 (C-12), 42.1 (C-13), 38.8 (C-14), 52.8 (C-15), 80.6 (C-16), 70.5 (C-17), 27.7 (C-18), 21.4 (C-19), 18.2 (C-20)。以上数据与文献报道的基本一致^[22], 故确定化合物2为对映-16 α ,17-二羟基贝壳衫-3-酮。

化合物3: 白色无定型粉末。HR-ESI-MS m/z : 321.242 6 [M+H]⁺ (calcd for C₂₀H₃₃O₃, 321.243 0)。

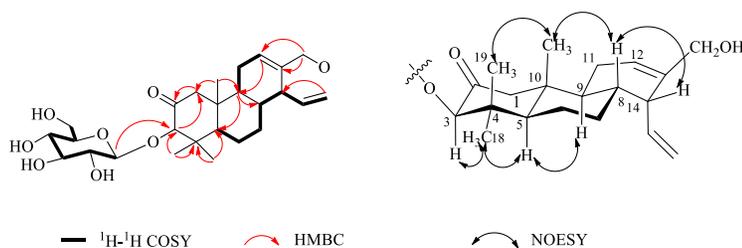


图1 化合物1的关键COSY、HMBC和苷元的NOESY相关

Fig. 1 ¹H-¹H COSY and key HMBC correlations of compound 1 and NOESY correlation of aglycone

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.79 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-17), 3.67 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-17), 2.47 (2H, m, H-2), 2.06 (1H, m, H-13), 1.06 (6H, s, H-18, 20), 1.03 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 39.4 (C-1), 34.1 (C-2), 218.2 (C-3), 47.3 (C-4), 54.4 (C-5), 21.8 (C-6), 41.0 (C-7), 44.6 (C-8), 55.5 (C-9),

38.6 (C-10), 18.9 (C-11), 26.2 (C-12), 45.4 (C-13), 37.0 (C-14), 52.9 (C-15), 81.9 (C-16), 66.4 (C-17), 27.4 (C-18), 21.1 (C-19), 17.9 (C-20)。以上数据与文献报道的基本一致^[23], 确定化合物3为阿贝苦酮。

化合物4: 黄色无定型粉末。HR-ESI-MS m/z : 321.242 2 [M+H]⁺ (calcd for C₂₀H₃₃O₃, 321.243 0)。

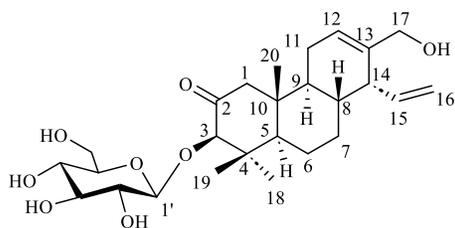


图2 化合物1的结构

Fig. 2 Structure of compound 1

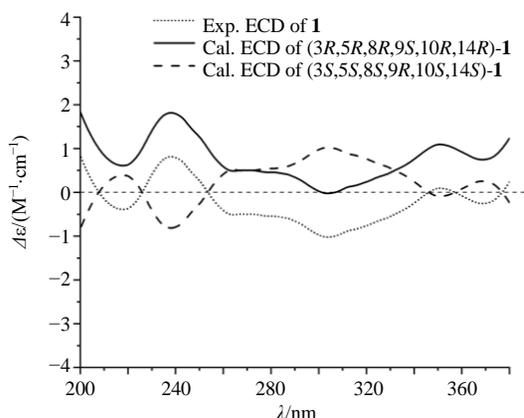


图3 化合物1的实验测定ECD和计算ECD值

Fig. 3 Experimental ECD and calculation ECD spectra of compound 1

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, pyridine- d_6) δ : 3.58 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-17a), 3.44 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-17b), 2.58 (1H, ddd, $J = 16.0, 12.4, 6.9$ Hz, H-2a), 2.34 (1H, ddd, $J = 16.0, 6.0, 3.2$ Hz, H-2b), 2.02 (1H, m, H-11), 1.87 (1H, m, H-14), 1.84 (2H, m, H-1, 12), 1.62 (1H, m, H-13a), 1.50 (1H, m, H-13b), 1.46 (2H, m, H-6), 1.43 (1H, m, H-7a), 1.37 (1H, m, H-1), 1.35 (1H, m, H-9), 1.31 (1H, m, H-5), 1.23 (2H, m, H-11, 15a), 1.16 (1H, m, H-7b), 1.11 (3H, s, 20- CH_3), 1.10 (1H, m, H-15b), 1.08 (3H, s, 18- CH_3), 1.04 (3H, s, 19- CH_3), 0.82 (1H, m, H-14); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, pyridine- d_6) δ : 38.5 (C-1), 34.7 (C-2), 216.4 (C-3), (C-4), 56.1 (C-5), 20.3 (C-6), 39.7 (C-7), 33.4 (C-8), 51.6 (C-9), 37.7 (C-10), 24.0 (C-11), 33.2 (C-12), 24.1 (C-13), 28.1 (C-14), 53.8 (C-15), 74.1 (C-16), 69.9 (C-17), 26.7 (C-18), 22.0 (C-19), 13.9 (C-20)。以上数据与文献报道的基本一致^[24], 确定化合物4为对映-16 β ,17-二羟基阿替生烷-3-酮。

化合物5: 白色无定型粉末。HR-ESI-MS m/z : 323.258 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{O}_3$, 323.258 1)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.53 (1H, m, H-6),

3.72 (1H, dd, $J = 11.2, 2.6$ Hz, H-16a), 3.45 (1H, m, H-3), 3.43 (1H, dd, $J = 11.2, 9.2$ Hz, H-16b), 3.20 (1H, dd, $J = 11.2, 2.6$ Hz, H-15), 1.96 (1H, m, H-10), 1.89 (1H, m, H-2), 1.68 (1H, m, H-7), 1.66 (1H, m, H-11), 1.65 (1H, m, H-2), 1.59 (1H, m, H-1a), 1.56 (1H, m, H-1b), 1.46 (1H, m, H-12a), 1.43 (1H, m, H-8), 1.36 (2H, m, H-12b, H-14), 1.24 (1H, m, H-11), 1.12 (3H, s, H-18), 1.07 (1H, m, H-14), 1.04 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, s, H-17), 0.73 (3H, s, H-20); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 144.4 (C-5), 120.1 (C-6), 82.8 (C-15), 77.1 (C-3), 63.5 (C-16), 47.8 (C-10), 41.6 (C-4), 37.8 (C-13), 37.6 (C-14), 37.2 (C-8), 35.9 (C-9), 35.2 (C-11), 31.7 (C-7), 30.1 (C-12), 29.6 (C-19), 29.5 (C-2), 26.1 (C-18), 20.3 (C-1), 18.8 (C-17), 12.8 (C-20)。以上数据与文献报道的基本一致^[25], 确定化合物5为 triarotundin A。

化合物6: 白色无定型粉末。HR-ESI-MS m/z : 321.243 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}_3$, 321.243 0)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.13 (1H, s, H-17), 4.97 (1H, s, H-17), 4.92 (1H, s, H-16a), 4.60 (1H, s, H-16b), 4.17 (1H, dd, $J = 3.2, 7.3$ Hz, H-14), 3.67 (1H, dd, $J = 3.2, 11.2$ Hz, H-15a), 3.51 (1H, dd, $J = 7.3, 11.2$ Hz, H-15b), 2.44 (1H, m, H-7a), 2.39 (1H, m, H-2), 2.26 (1H, m, H-2), 2.23 (1H, m, H-12a), 2.06 (1H, m, H-1), 1.98 (1H, m, H-7b), 1.79 (1H, m, H-12b), 1.69 (1H, m, H-6), 1.67 (1H, m, H-9), 1.63 (2H, m, H-11), 1.58 (1H, m, H-1), 1.52 (1H, m, H-5), 1.50 (1H, m, H-6), 1.09 (3H, s, H-18), 1.02 (3H, s, H-19), 0.87 (3H, s, H-20); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 37.8 (C-1), 34.8 (C-2), 217.1 (C-3), 47.9 (C-4), 55.3 (C-5), 25.2 (C-6), 37.9 (C-7), 147.2 (C-8), 55.7 (C-9), 39.5 (C-10), 22.9 (C-11), 31.5 (C-12), 149.0 (C-13), 75.4 (C-14), 65.8 (C-15), 110.7 (C-16), 107.7 (C-17), 26.1 (C-18), 21.9 (C-19), 14.2 (C-20)。以上数据与文献报道的基本一致^[26], 确定化合物6为野梧桐新素E。

化合物7: 白色无定型粉末。HR-ESI-MS m/z : 361.235 1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{O}_3$, 361.235 5), 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 3.59 (1H, ddd, $J = 11.7, 4.9, 2.6$ Hz, H-2), 3.40 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-3), 5.53 (1H, m, H-6), 2.00 (1H, ddd, $J = 12.8, 4.7, 2.2$ Hz, H-10), 3.20 (1H, dd, $J = 8.8, 2.6$ Hz, H-15), 3.75 (1H, dd, $J = 11.0, 2.6$ Hz, H-16a),

3.39 (1H, dd, $J = 11.0, 8.8$ Hz, H-16b), 0.91 (3H, s, H-17), 1.20 (3H, s, H-18), 1.00 (3H, s, H-19), 0.72 (3H, s, H-20); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 28.6 (C-1), 69.5 (C-2), 80.2 (C-3), 42.4 (C-4), 142.7 (C-5), 120.8 (C-6), 30.3 (C-7), 37.3 (C-8), 36.0 (C-9), 46.7 (C-10), 31.6 (C-11), 35.3 (C-12), 37.8 (C-13), 37.5 (C-14), 82.6 (C-15), 63.5 (C-16), 18.9 (C-17), 29.0 (C-18), 26.0 (C-19), 12.9 (C-20)。以上数据与文献报道相符^[27], 确定化合物 **7** 为 2 α -hydroxy-19-deoxy-jesromotetrol。

4 抗炎活性筛选结果

MTT 实验结果表明化合物在试验浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时无明显细胞毒性。考察了化合物对 LPS 诱导 RAW264.7 巨噬细胞中抑制 NO 生成的作用, 结果见表 2。化合物 **3** 和 **5** 诱导 RAW264.7 巨噬细胞中 NO 生成具有较好的抑制作用, 其 IC_{50} 值分别为 28.21 和 31.73 $\mu\text{mol/L}$, 而阳性对照地塞米松 IC_{50} 值为 44.99 $\mu\text{mol/L}$ 。

表 2 化合物 1~7 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 NO 生成的抑制作用

Table 2 Inhibitory activities on NO of compounds 1—7 in LPS-induced RAW264.7 cells

化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
1	50.10 \pm 3.87
2	>80
3	28.21 \pm 0.56
4	>80
5	31.73 \pm 1.51
6	57.55 \pm 3.65
7	>80
地塞米松	44.99 \pm 1.10

5 讨论

本研究从红叶野桐茎的醋酸乙酯部位中分离鉴定了 7 个二萜类化合物, 其中化合物 **1** 为 1 个新化合物。并对上述化合物进行了体外抗炎活性筛选, 发现化合物 **3** 和 **5** 具有潜在的抗炎活性。本研究结果进一步丰富了红叶野桐二萜类化学成分的结构类型, 对完善红叶野桐抗炎作用的物质基础具有一定的意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 李治军, 胡婷. 白背叶的化学成分与药理作用研究进

展 [J]. 中成药, 2013, 35(3): 599-603.

- [2] 广西壮族自治区革命委员会卫生局. 广西本草选编 [M]. 南宁: 广西人民出版社, 1974: 418-419.
- [3] 《浙江药用植物志》编写组. 浙江药用植物志 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1980: 715.
- [4] Tripathi I P, Chaudhary P, Pandey P. *Mallotus philippensis*: A miracle stick [J]. *World J Pharm Res*, 2017, 6 (7): 678-687.
- [5] 中国科学院昆明植物研究所. 云南种子植物名录 (上册) [M]. 昆明: 云南人民出版社, 1984: 447.
- [6] 广西中药资源大典编辑委员会. 广西中药资源大典 (全州卷) [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2022: 382.
- [7] 陈煌灿. 红叶野桐茎 75%乙醇提取物乙酸乙酯萃取部分化学成分和抗菌活性研究 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2018.
- [8] 陈德力, 张小坡, 吴海峰, 等. 野桐属植物化学成分及其药理活性研究进展 [J]. *中草药*, 2014, 45(15): 2248-2264.
- [9] 杨益平, 唐宗俭, 冯胜初, 等. 锈毛野桐化学成分的研究: III. 玫瑰烷型二萜成分的分离与结构 [J]. *化学学报*, 1992, 50(2): 200-204.
- [10] 杨益平, 唐宗俭, 徐任生, 等. 锈毛野桐化学成分的研究: IV. 微量新二萜成分的分离与结构 [J]. *化学学报*, 1992, 50(2): 205-208.
- [11] Cheng X F, Chen Z, Zeng-Mu M. Two new diterpenoids from *Mallotus apelta* Muell. Arg [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 1999, 1(3): 163-168.
- [12] Cheng X F, Chen Z L. Three new diterpenoids from *Mallotus apelta* Muell. Arg [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 1999, 1(4): 319-325.
- [13] Bai Y, Yang Y P, Ye Y. Hookerianolides A–C: Three novel casbane-type diterpenoid lactones from *Mallotus hookerianus* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2006, 47(37): 6637-6640.
- [14] Zhang Y J, Zhou D X, Liu W, et al. Cytotoxic activity and related mechanisms of prenylflavonoids isolated from *Mallotus conspurcatus* Croizat [J]. *Chem Biodivers*, 2019, 16(5): e1800465.
- [15] Zhang Y J, Chen H C, Zhou D X, et al. Paxiiones A–D, four new flavonoids from the stem of *Mallotus paxii* Pamp [J]. *Phytochem Lett*, 2020, 37: 70-74.
- [16] 侯萍, 任晨阳, 黄艳, 等. 红叶野桐叶中的木脂素类化合物 [J/OL]. 广西植物, [2023-12-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.q.20231215.1354.006.html>.
- [17] 范雨欣, 徐瑞雯, 张晓祎, 等. 中华枸杞中 1 个新的香豆素葡萄糖苷 [J]. *中草药*, 2024, 55(1): 23-29.
- [18] Huang Y, Pan L W, Chang Y L, et al. Megastigmane glycosides from *Streblus ilicifolius* (S.Vidal) Corner and

- their anti-inflammatory activity [J]. *Phytochemistry*, 2023, 208: 113606.
- [19] Huang Y, Huang X S, Tian G B, *et al.* Two new amide glycosides with anti-inflammatory activity from the leaves of *Streblus ilicifolius* (Vidal) Corner [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(6): 1485-1493.
- [20] 王俊林, 张炜, 尚宇欣, 等. 藏药肉果草中 1 对新的木脂素苷 [J]. *中草药*, 2023, 54(10): 3049-3053.
- [21] Du Z Z, Shen Y M. A rare new cleistanthane diterpene from the pericarp of *Trewia nudiflora* [J]. *Helv Chim Acta*, 2006, 89(11): 2841-2845.
- [22] 王环, 张晓峰, 罗晓东. 大果大戟中的一个对映-贝壳杉烷型二萜 [J]. *天然产物研究与开发*, 2006, 18(1): 53-54.
- [23] 吴少华, 沈月毛, 陈有为, 等. 滑桃树茎皮的化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(13): 1566-1568.
- [24] 王妍, 梁旭博, 赵珍珠. 泽漆全草中二萜类成分研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(15): 4625-4633.
- [25] Zhao H Y, Su B J, Zhou W J, *et al.* Diterpenoids and triterpenoids from *Triadica rotundifolia* and their effects on microglial nitric oxide production [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 105: 104332.
- [26] Li D Z, Tang C P, Quinn R J, *et al.* Ent-Labdane diterpenes from the stems of *Mallotus japonicus* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(9): 1580-1585.
- [27] Perezcastorena A L, Martinezvazquez M, Devivar A R. Diterpenes of *Bahia glandulosa* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(4): 729-734.

[责任编辑 王文倩]