

大叶山楝中二萜类化学成分及其抗炎活性研究

陈彦伍, 秦天丽, 吴石丽, 蒋华夷*, 何红平*

云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 研究大叶山楝 *Aphanamixis polystachya* 枝叶的化学成分及其抗炎活性。方法 采用硅胶、C₁₈ 反相硅胶、Sephadex LH-20 凝胶及 MCI 等多种柱色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质结合波谱数据鉴定化合物结构。采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞炎症模型, 对化合物进行抗炎活性评价。结果 从大叶山楝枝叶中分离得到 11 个二萜类化合物, 分别鉴定为 (4*S*)-4-[(*E*)-11-(15,15-dimethyl-14-oxo-14,15-dihydrofuran-12-yl)-11,18-dihydroxy-7-methyloct-6-en-5-yl]-3-methyl-1(4*H*)-furanone (**1**)、nemoralisin B (**2**)、aphapolin A (**3**)、nemoralisin G (**4**)、nemoralisin J (**5**)、nemoralisin I (**6**)、nemoralisin H (**7**)、nemoralisin D (**8**)、nemoralisin A (**9**)、aphanamene B (**10**) 和反式植醇 (**11**)。化合物 **11** 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞内 NO 的生成有微弱抑制作用, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值为 428.7 μmol/L。结论 化合物 **1** 为新化合物, 命名为陵水暗罗素 O (nemoralisin O); 化合物 **3**、**8** 和 **11** 为首次从大叶山楝中分离得到; 化合物 **11** 显示出微弱的抗炎活性。

关键词: 大叶山楝; 二萜; 抗炎活性; 陵水暗罗素 O; 反式植醇; aphapolin A; nemoralisin D

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)14-4656-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.14.003

Diterpenoids from *Aphanamixis polystachya* and their anti-inflammatory activities

CHEN Yanwu, QIN Tianli, WU Shili, JIANG Huayi, HE Hongping

College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the stems and leaves of *Aphanamixis polystachya* and their anti-inflammatory activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by various column chromatography techniques, such as silica gel, C₁₈ reversed-phase silica gel, Sephadex LH-20 and MIC, and their structures were identified by physiochemical properties and spectroscopic data. The LPS-induced RAW 264.7 macrophage inflammation model was used to evaluate the anti-inflammatory activity. **Results** Eleven diterpenoids were isolated, which were elucidated as nemoralisin O (**1**), nemoralisin B (**2**), aphapolin A (**3**), nemoralisin G (**4**), nemoralisin J (**5**), nemoralisin I (**6**), nemoralisin H (**7**), nemoralisin D (**8**), nemoralisin A (**9**), aphanamene B (**10**), and *trans*-phytol (**11**). Compound **11** exhibited weak inhibitory activity against LPS-induced NO production with a half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value of 428.7 μmol/L. **Conclusion** Compound **1** is identified as a new compound and named nemoralisin O (**1**). Compounds **3**, **8**, and **11** were isolated from this plant for the first time. Compound **11** showed weak anti-inflammatory activity.

Key words: *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. Parker; diterpenoids; anti-inflammatory activity; nemoralisin O; *trans*-phytol; aphapolin A; nemoralisin D

楝科 (Meliaceae) 山楝属 *Aphanamixis* Bl. 植物 中南半岛、马来西亚等地, 在我国两广地区和云南
全世界有 25 种, 为乔木或灌木, 主要分布于印度、 亦有分布。大叶山楝 *Aphanamixis polystachya* (Wall.)

收稿日期: 2024-02-01

基金项目: 云南省科技重大专项 (202002AA100007)

作者简介: 陈彦伍 (1994—), 硕士, 研究方向为天然产物化学。E-mail: cyw2743730483@163.com

*通信作者: 蒋华夷 (1991—), 女, 硕士生导师, 讲师, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: Jianghuayi_2011@163.com

何红平 (1972—), 男, 博士生导师, 研究员, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: 95431111@qq.com

R. Parker 为常绿乔木, 具有祛风除湿、舒筋活络、通痹的功效, 在我国民间常用于治疗风寒痹痛、四肢麻木、拘挛及屈伸不利等^[1]。对大叶山楝化学成分的研究始于 20 世纪 70 年代, Polonsky 等^[2-3]从中分离得到 aphanastatin 和 amoorastatin, 其中, aphanastatin 对 P388 小鼠淋巴瘤细胞具有显著的细胞毒活性 ($ED_{50}=0.065 \mu\text{g/mL}$)^[2]。近 10 年来, 国内多个课题组陆续对不同地区的大叶山楝开展了化学成分研究, 报道了一系列萜类化学成分, 包括柠檬苦素^[4]、三萜^[5]、二萜^[6]和倍半萜^[7]等^[8]。为了继续深入阐释这一传统药用植物的化学物质基础, 本实验对采自云南省金平县的大叶山楝枝叶开展了系统的化学成分研究, 从其 90%乙醇提取物中分离鉴定了 11 个二萜类化合物 (图 1), 分别鉴定为 (4*S*)-4-[(*E*)-11-(15,15-dimethyl-14-oxo-14,15-dihydrofuran-12-yl)-11,18-dihydroxy-7-methyloct-6-en-5-yl]-3-methyl-1(4*H*)-furanone (**1**)、nemoralisin B (**2**)、aphapolin A (**3**)、nemoralisin G (**4**)、nemoralisin J (**5**)、nemoralisin I (**6**)、nemoralisin H (**7**)、nemoralisin D (**8**)、nemoralisin A (**9**)、aphanamene B (**10**) 和反式植醇

(*trans*-phytol, **11**)。化合物 **1** 为新化合物, 命名为陵水暗罗素 O; 化合物 **3**、**8** 和 **11** 为首次从该种植物中分离得到; 化合物 **11** 对脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 RAW 264.7 细胞内 NO 的生成表现出微弱的抑制作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Bruker Avance III 400 MHz 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 离子阱飞行时间质谱仪 (LC-MS-IT-TOF, 日本 Shimadzu 公司); HP80 型细胞培养箱和 Centrifuge 5804R 型冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); Synergy2 型多功能酶标仪 (美国 Biotek 公司)。

甲醇、乙醇、丙酮、三氯甲烷、石油醚等试剂为重蒸工业或化学纯溶剂; 柱色谱硅胶 (300~400 目, 青岛海洋化工厂); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (美国 Pharmacia 公司); CHP20P 小孔树脂凝胶 (MCI, 日本三菱化成公司); 反相柱色谱材料 ODS (Merck 公司); H-DMEM 培养基 (美国 Hyclone 公司, 批号 AB10155403); 胎牛血清 (美国 Gibco 公司, 批号

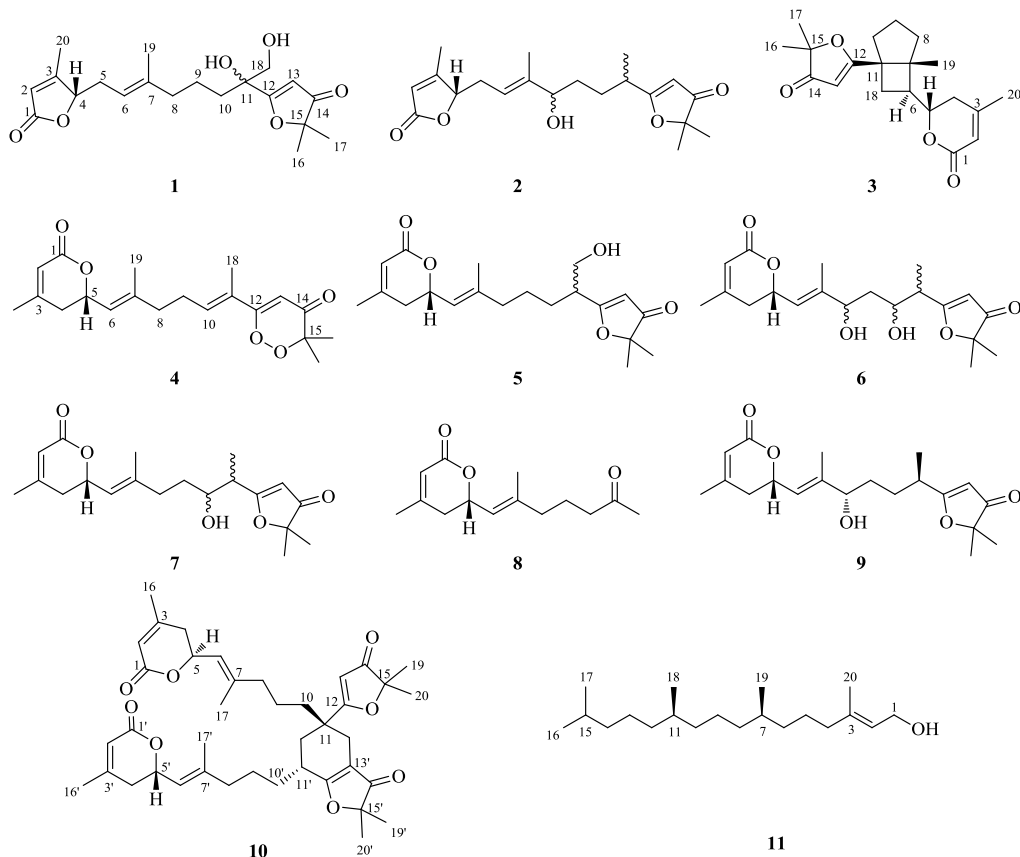


图 1 化合物 1~11 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—11

1925403); 细胞增殖和毒性检测 (MTS) 试剂盒 (上海贝博生物公司, 批号 BB19071X); NO 检测试剂盒 (碧云天生物技术有限公司, 批号 032519190612); DMSO (美国 Sigma 公司, 批号 67-68-5); LPS (索莱宝生物技术有限公司, 批号 320V0312); N^G -单甲基-L-精氨酸乙酸盐 (L-NMMA, 批号 032219190703, 碧云天生物技术有限公司)。

1.2 材料

大叶山楝枝叶于 2017 年 12 月采自云南省红河州金平县, 植物标本经中国科学院昆明植物研究所龚洵研究员鉴定为楝科山楝属植物大叶山楝 *A. polystachya* (Wall.) R. Parker, 标本 (H20171220) 保存于云南中医药大学云南省傣医药与彝医药重点实验室。

RAW264.7 小鼠巨噬细胞 (中科院上海细胞库)。

2 方法

2.1 提取与分离

大叶山楝干燥枝叶 (22 kg) 粉碎, 用 90% 的乙醇回流提取 3 次, 减压浓缩提取液得浸膏 (3.2 kg)。将浸膏与水混悬后依次用石油醚、醋酸乙酯进行萃取, 减压浓缩得到石油醚萃取物 (644 g) 和醋酸乙酯萃取物 (1.2 kg)。

石油醚部位经大孔树脂柱层析, 以乙醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱得到 6 个部位 (Fr. 1~6)。Fr. 4 (12 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮 (50:1~1:1) 梯度洗脱, 再经 ODS 柱色谱以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 得到化合物 **5** (5.5 mg)。

醋酸乙酯部位经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮 (100:1~0:1) 梯度洗脱, 得 8 个部位 (Fr. 1~8)。Fr. 3 (51 g) 经 MCI 柱色谱, 以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱得到 5 个部位 (Fr. 3-1~3-5)。Fr. 3-2 (12 g) 经过 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱得到 4 个部位 (Fr. 3-2-1~3-2-4)。Fr. 3-2-3 (500 mg) 经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱, 以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 重结晶得到化合物 **3** (1.5 mg) 和 **11** (9.9 mg)。Fr. 3-4 (7.9 g) 先经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (20:1~4:1) 梯度洗脱, 再经 ODS 柱色谱以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱, 最后经 Sephadex LH-20 柱色谱分离以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 得到化合物 **6** (6.5 mg) 和 **10** (40.0 mg)。Fr. 3-5 先经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (20:

1~4:1) 梯度洗脱, 再经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱, 最后经 Sephadex LH-20 柱色谱以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 得到化合物 **1** (5.0 mg)、**9** (9.5 mg)、**7** (60.1 mg)、**4** (17.2 mg) 和 **2** (8.5 mg)。Fr. 4 (109 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (50:1~4:1) 梯度洗脱, 得到 8 个部位 (Fr. 4-1~4-8)。Fr. 4-4 (15 g) 经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱得到 6 个部位 (Fr. 4-4-1~4-4-6)。Fr. 4-4-5 (2 g) 经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 得到化合物 **8** (8.4 mg)。

2.2 抗炎活性研究

以小鼠巨噬细胞为检测模型, 应用 Griess 试剂显色法检测一氧化氮的生成量, MTS 法测定细胞存活量, Reed & Muench 法计算化合物的 IC_{50} 值。基于分离得到的化合物的相关文献报道^[9-10], 结合分离得到的样品量情况, 选择化合物 **8** 和 **11** 进行体外抗炎活性研究。将小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 接种至 96 孔板, 用 1 μ g/mL LPS 进行诱导, 同时加入待测化合物处理 (终浓度从 20 μ mol/L 开始 2.5 倍稀释, 共设 5 个梯度), 设计 L-NMMA 阳性药物组 and 不含药物组作对照。细胞过夜培养后取培养基检测 NO 的生成, 在 570 nm 处测定吸光度 (A) 值。在剩余培养基中加入 MTS 进行细胞存活率检测, 排除化合物对细胞的毒性影响。化合物 IC_{50} 值按 Reed & Muench 法计算。

$$NO \text{ 生成抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{对照}}$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物, HR-ESI-MS 显示分子离子峰 m/z 387.1776 ($[M+Na]^+$, 计算值 387.1778), 提示化合物分子式为 $C_{20}H_{28}O_6$, 不饱和度为 7。红外光谱 (KBr) 显示羟基 (3430 cm^{-1})、羰基 (1737 cm^{-1}) 和双键 (1698 cm^{-1}) 的特征吸收峰。紫外光谱 (甲醇) 显示最大吸收为 $\lambda_{\max}$ ($\log \epsilon$) 262 (2.47)。 1H -NMR 数据 (表 1) 表明分子中具有 4 个甲基 [δ_H 1.38 (3H, s, H-16), 1.38 (3H, s, H-17), 1.58 (3H, s, H-19), 2.06 (3H, s, H-20)], 1 个连氧亚甲基 [δ_H 3.65 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-18a), 3.80 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-18b)], 3 个烯炔次甲基 [δ_H 4.93 (1H, overlapped, H-6), 5.69 (1H, s, H-13), 5.82 (1H, brs, H-2)] 和 1 个连氧次甲基 [δ_H 4.93 (1H, overlapped, H-4)]。 ^{13}C -NMR 和

表 1 化合物 1 和 2 的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 数据 (400/100 MHz, CDCl_3)
Table 1 ^1H -and ^{13}C -NMR spectral data of compounds 1 and 2 (400/100 MHz, CDCl_3)

碳位	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		173.9 (C)		172.7 (C)
2	5.82 (1H, brs)	117.6 (CH)	5.86 (1H, s)	117.6 (CH)
3		168.6 (C)		167.6 (C)
4	4.93 (1H, overlapped)	84.4 (CH)	4.85 (1H, brt, $J = 4.4$ Hz)	83.9 (CH)
5a	2.74 (1H, m)	29.9 (CH_2)	2.61 (1H, m)	29.8 (CH_2)
5b	2.30 (1H, m)		2.40 (1H, m)	
6	4.93 (1H, overlapped)	116.5 (CH)	5.27 (1H, brt, $J = 6.8$ Hz)	117.7 (CH)
7		139.8 (C)		141.4 (C)
8	1.99 (2H, m)	39.6 (CH_2)	4.15 (1H, t, $J = 6.5$ Hz)	77.1 (CH)
9a	1.54 (1H, overlapped)	20.7 (CH_2)	1.53 (1H, m)	32.1 (CH_2)
9b	1.30 (1H, overlapped)		1.32 (1H, m)	
10a	1.54 (1H, overlapped)	34.6 (CH_2)	1.55 (2H, m)	30.2 (CH_2)
10b	1.30 (1H, overlapped)			
11		76.3 (C)	2.65 (1H, m)	35.4 (CH)
12		192.8 (C)		195.4 (C)
13	5.69 (1H, s)	102.3 (CH)	5.44 (1H, s)	99.5 (CH)
14		207.2 (C)		207.4 (C)
15		89.8 (C)		88.4 (C)
16	1.38 (3H, s)	23.1 (CH_3)	1.32 (3H, s)	23.2 (CH_3)
17	1.38 (3H, s)	23.0 (CH_3)	1.33 (3H, s)	23.1 (CH_3)
18a	3.80 (1H, d, $J = 8.8$ Hz)	67.8 (CH_2)	1.16 (2H, d, $J = 7.0$ Hz)	17.5 (CH_3)
18b	3.65 (1H, d, $J = 8.8$ Hz)			
19	1.58 (3H, s)	16.0 (CH_3)	1.70 (3H, s)	12.4 (CH_3)
20	2.06 (3H, s)	14.1 (CH_3)	2.10 (3H, s)	13.6 (CH_3)

DEPT 谱图 (表 1) 显示 20 个碳信号, 包括 4 个甲基, 5 个亚甲基 (1 个连氧亚甲基), 4 个次甲基 (3 个烯烃次甲基和 1 个连氧次甲基) 及 7 个季碳 (2 个羰基、3 个烯烃季碳和 2 个连氧季碳)。据此, 推断该化合物为含有 2 个环的二萜类化合物。

经对比, 化合物 1 与已知化合物 2^[9] 的波谱数据类似, 只是化合物 2 的 C-8 位羟基转移到了 C-11 位, 且 C-11 位上的甲基变成了连氧亚甲基。在化合物 1 的 HMBC 谱图中, H-4 (δ_{H} 4.93) 与 C-2 (δ_{C} 117.6)、C-3 (δ_{C} 168.6)、C-5 (δ_{C} 29.9)、C-6 (δ_{C} 116.5) 相关, H₂-18 (δ_{H} 3.65, 3.80) 与 C-10 (δ_{C} 34.6)、C-11 (δ_{C} 76.3)、C-12 (δ_{C} 192.8) 相关, H-9 (δ_{H} 1.30, 1.54)、H-10 (δ_{H} 1.30, 1.54) 与 C-11 (δ_{C} 76.3) 相关 (图 2), 结合分子式, 确定 C-18 和 C-11 位各与 1 个羟基相连, 故化合物 1 的平面结构得以确定 (图 1)。

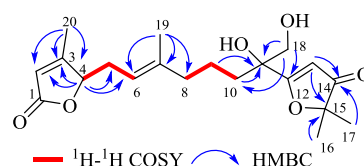


图 2 化合物 1 的关键 ^1H - ^1H COSY 和 HMBC 相关
Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations of compound 1

在 ROESY 谱中, Me-19 (δ_{H} 1.58) 与 H-5a (δ_{H} 2.74) 相关, 表明 $\Delta^6(7)$ 的双键为 *E*-型^[9]。化合物 1 的圆二色谱 (CD) 在 210 nm ($\Delta\epsilon -1.43$) 处显示负的 Cotton 效应, 表明其 C-4 位为 *S* 构型^[9,11]。然而, 由于连接链 (C-4-C-12) 为柔性结构, 无法通过 ROESY 谱图确定 C-11 的立体构型。因此, 化合物 1 的结构确定为 (4*S*)-4-[(*E*)-11-(15,15-dimethyl-14-oxo-14,15-dihydro-

furan-12-yl)-11,18-dihydroxy-7-methyloct-6-en-5-yl]-3-methyl-1(4*H*)-furanone, 经 SciFinder 检索, 为 1 个新化合物, 命名为陵水暗罗素 O (nemoralisin O)。

化合物 3: 无色晶体 (石油醚), $C_{20}H_{26}O_4$; ESI-MS m/z : 353 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.85 (1H, brs, H-2), 5.62 (1H, s, H-13), 4.55 (1H, dt, $J=9.2, 7.2$ Hz, H-5), 2.57 (1H, dd, $J=7.7, 13.1$ Hz, H-18b), 2.20~2.23 (2H, m, H-6), 2.17~2.19 (2H, m, H-4), 2.01~2.03 (1H, m, H-9), 1.98 (3H, brs, H-20), 1.94 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-18a), 1.39 (3H, s, H-17), 1.38 (3H, s, H-16), 1.11 (3H, s, H-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 210.2 (C-14), 197.1 (C-12), 167.5 (C-1), 161.2 (C-3), 116.4 (C-2), 102.1 (C-13), 90.4 (C-15), 79.8 (C-5), 55.6 (C-11), 50.7 (C-7), 43.7 (C-6), 42.1 (C-8), 38.1 (C-10), 32.6 (C-4), 27.7 (C-18), 25.9 (C-9), 23.4 (C-16), 23.3 (C-17), 23.0 (C-20), 17.5 (C-19)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 3 为 aphapolin A。

化合物 4: 无色油状物, $C_{20}H_{26}O_5$; 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 6.59 (1H, t, $J=7.4$ Hz, H-10), 5.71 (1H, s, H-2), 5.53 (1H, s, H-13), 5.38 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 5.15 (1H, ddd, $J=12.1, 8.4, 4.0$ Hz, H-5), 2.34 (1H, dd, $J=18.1, 12.1$ Hz, H-4a), 2.31 (1H, dd, $J=18.1, 4.0$ Hz, H-4b), 1.97 (3H, s, H-20), 1.93 (3H, s, H-18), 1.77 (3H, s, H-19), 1.31 (6H, s, H-16, 17); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 206.3 (C-14), 184.8 (C-12), 164.8 (C-1), 158.4 (C-3), 141.4 (C-7), 137.7 (C-10), 127.2 (C-11), 124.6 (C-6), 117.1 (C-2), 99.5 (C-13), 88.3 (C-15), 76.3 (C-8), 74.8 (C-5), 37.8 (C-9), 34.6 (C-4), 23.0 (C-20), 22.2 (C-16, 17), 15.8 (C-19), 12.3 (C-18)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 4 为 nemoralisin G。

化合物 5: 无色油状物, $C_{20}H_{28}O_5$; 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 5.78 (1H, s, H-2), 5.51 (1H, s, H-13), 5.36 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-6), 5.10 (1H, ddd, $J=11.5, 8.6, 3.9$ Hz, H-5), 3.78~3.80 (2H, m, H-18), 2.32 (1H, dd, $J=17.9, 11.5$ Hz, H-4a), 2.30 (1H, dd, $J=17.9, 3.9$ Hz, H-4b), 2.01 (3H, s, H-20), 1.72 (3H, s, H-19), 1.33 (3H, s, H-16), 1.32 (3H, s, H-17); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 210.1 (C-14), 195.9 (C-12), 167.8 (C-1), 160.9 (C-3), 143.6 (C-7), 123.7 (C-6), 116.4 (C-2), 102.7 (C-13), 89.8 (C-15), 75.9 (C-5), 63.7 (C-18), 45.9 (C-11), 40.1 (C-8), 35.8 (C-4), 29.4 (C-

10), 25.7 (C-9), 23.0 (C-20), 22.9 (C-17), 22.8 (C-16), 16.5 (C-19)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 5 为 nemoralisin J。

化合物 6: 无色油状物, $C_{20}H_{28}O_6$; 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 5.87 (1H, s, H-2), 5.72 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-6), 5.51 (1H, s, H-13), 5.33 (1H, ddd, $J=11.4, 8.6, 3.8$ Hz, H-5), 4.15 (1H, d, $J=12.1$ Hz, H-10), 2.85 (1H, s, H-11), 2.40 (1H, dd, $J=17.8, 11.4$ Hz, H-4a), 2.39 (1H, dd, $J=17.8, 3.8$ Hz, H-4b), 2.14 (3H, s, H-20), 1.85 (3H, s, H-19), 1.74~1.76 (2H, m, H-9), 1.44 (6H, s, H-16, 17), 1.37 (3H, d, $J=7.0$ Hz, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 206.5 (C-14), 195.7 (C-12), 164.4 (C-1), 158.1 (C-3), 144.2 (C-7), 123.5 (C-6), 116.6 (C-2), 101.5 (C-13), 88.1 (C-15), 76.3 (C-8), 74.5 (C-5), 74.2 (C-10), 42.2 (C-11), 38.9 (C-9), 34.5 (C-4), 22.3 (C-20), 22.2 (C-16, 17), 13.2 (C-18), 12.5 (C-19)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 6 为 nemoralisin I。

化合物 7: 无色油状物, $C_{20}H_{28}O_5$; ESI-MS m/z 371 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.79 (1H, s, H-2), 5.55 (1H, s, H-13), 5.31 (1H, t, $J=8.5$ Hz, H-6), 5.08 (1H, ddd, $J=14.4, 8.5, 4.0$ Hz, H-5), 2.38 (1H, brt, $J=4.0$ Hz, H-4), 1.68~1.70 (1H, m, H-10), 1.66 (3H, s, H-19), 1.40 (6H, s, H-16, 17), 1.22 (3H, d, $J=6.9$ Hz, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 207.5 (C-14), 195.2 (C-12), 164.8 (C-1), 156.6 (C-3), 141.4 (C-7), 122.1 (C-6), 117.4 (C-2), 99.9 (C-13), 87.9 (C-15), 74.1 (C-5), 73.7 (C-10), 42.9 (C-11), 35.6 (C-8), 35.0 (C-4), 33.2 (C-9), 23.2 (C-20), 22.4 (C-16, 17), 16.4 (C-19), 13.8 (C-18)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 7 为 nemoralisin H。

化合物 8: 无色油状物, $C_{14}H_{20}O_3$; ESI-MS m/z 259 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 5.68~5.70 (1H, m, H-2), 5.31~5.33 (1H, m, H-6), 5.11 (1H, ddd, $J=10.6, 8.5, 4.6$ Hz, H-5), 2.40 (2H, dd, $J=10.9, 7.2$ Hz, H-10), 2.04 (3H, s, H-12), 1.94 (3H, s, H-14), 1.69 (3H, d, $J=1.3$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 207.6 (C-11), 164.8 (C-1), 158.2 (C-3), 141.7 (C-7), 123.8 (C-6), 116.6 (C-2), 74.5 (C-5), 41.9 (C-10), 39.1 (C-8), 35.3 (C-4), 28.9 (C-12), 21.9 (C-14), 21.3 (C-9), 15.6 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 8 为 nemoralisin D。

化合物 9: 无色油状物, $C_{20}H_{28}O_5$; ESI-MS m/z

349 [M+H]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.83 (1H, s, H-2), 5.34 (1H, s, H-6), 5.55 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 5.14 (1H, ddd, *J* = 11.4, 8.5, 4.0 Hz, H-5), 4.02 (1H, q, *J* = 6.0 Hz, H-8), 2.36 (1H, dd, *J* = 18.8, 11.4 Hz, H-4a), 2.19 (1H, dd, *J* = 18.8, 4.0 Hz, H-4b), 1.32 (6H, s, H-16, 17), 2.00 (3H, s, H-20, 17), 1.66 (3H, s, H-19), 1.19 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 207.5 (C-14), 194.9 (C-12), 164.8 (C-1), 157.3 (C-3), 143.9 (C-7), 122.7 (C-6), 116.1 (C-2), 99.3 (C-13), 87.9 (C-15), 75.9 (C-8), 73.4 (C-5), 35.4 (C-11), 34.2 (C-4), 31.6 (C-10), 29.4 (C-9), 23.0 (C-20), 22.1 (C-16, 17), 17.7 (C-18), 12.0 (C-19)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **9** 为 nemoralisin A。

化合物 **10**: 无色油状物, C₄₀H₅₂O₈; ESI-MS *m/z* 483 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ: 5.70 (1H, s, H-2), 5.69 (1H, s, H-2'), 5.40~5.43 (1H, m, H-5, 5'), 5.35 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 5.35 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-6'), 2.34~2.36 (1H, m, H-4), 1.97 (3H, s, H-16), 1.96 (3H, s, H-16'), 1.67 (3H, s, H-17'), 1.65 (3H, s, H-17), 1.71~1.73 (1H, m, H-10a), 1.65~1.67 (1H, m, H-10b), 1.33 (3H, s, H-20), 1.36 (3H, s, H-19'), 1.29 (3H, s, H-20'), 1.26 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ: 206.3 (C-14, 14'), 195.8 (C-12), 191.0 (C-12'), 165.3 (C-1), 165.2 (C-1'), 158.7 (C-3'), 158.6 (C-3), 142.3 (C-7, 7'), 124.3 (C-6'), 124.2 (C-6), 117.3 (C-2, 2'), 112.6 (C-13'), 102.4 (C-13), 89.2 (C-15'), 88.5 (C-15), 75.1 (C-5, 5'), 43.2 (C-11), 40.6 (C-8'), 40.3 (C-8), 37.4 (C-11'), 35.9 (C-4'), 35.6 (C-4, 18), 31.4 (C-10), 31.2 (C-10'), 25.1 (C-9), 23.7 (C-16'), 23.6 (C-16), 23.4 (C-18'), 23.3 (C-19'), 23.1 (C-9'), 23.0 (C-19, 20'), 22.9 (C-20), 17.0 (C-17'), 16.9 (C-17)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **10** 为 aphanamene B。

化合物 **11**: 无色油状物, C₂₀H₄₀O; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.31~5.33 (1H, m, H-2), 4.02 (2H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1), 3.32 (1H, t, *J* = 10.9 Hz, 1-OH), 1.94 (2H, t, *J* = 14.7 Hz, H-4), 1.57 (1H, s, H-17), 1.48~1.50 (1H, m, H-15), 1.39~1.41 (2H, m, H-5), 1.36~1.38 (1H, m, H-6a), 1.30~1.33 (1H, m, H-6b), 0.84 (6H, d, *J* = 1.6 Hz, H-16, 20), 0.82 (6H, d, *J* = 1.6 Hz, H-18, 19); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 136.3 (C-3), 125.2 (C-2), 58.2 (C-1), 39.6 (C-4), 39.2 (C-14), 37.2 (C-8, 10), 37.1 (C-12), 36.4 (C-6), 32.6 (C-11),

32.5 (C-7), 27.8 (C-15), 25.0 (C-5), 24.6 (C-13), 24.2 (C-9), 22.1 (C-20), 22.0 (C-16), 19.2 (C-18, 19), 15.2 (C-17)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **11** 为反式植醇。

3.2 抗炎活性筛选结果

化合物 **11** 显示出微弱的 NO 生成抑制活性, 其 IC₅₀ 值为 428.7 μmol/L (阳性对照药的 IC₅₀ 值为 58.82 μmol/L), 其他化合物未显示出明显的活性。

4 讨论

本研究对大叶山楝枝叶进行化学成分研究, 共分离鉴定了 11 个二萜类化合物 (**1**~**11**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **3**、**8** 和 **11** 为首次从该种植物中分离得到。化合物 **8** 是 1 个降碳二萜, 化合物 **10** 为二萜二聚体。抗炎活性测试结果表明, 化合物 **11** 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞内 NO 的生成表现出微弱的抑制活性。本研究在一定程度上为大叶山楝这一传统药用植物的民间药用提供了一定的依据, 并为后续进一步研究其药效物质基础及作用机制奠定了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科植物志委员会. 中国植物志 (第 43 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 1-3.
- [2] Polonsky J, Varon Z, Arnoux B, et al. Antineoplastic agents. 57. Isolation and structure of aphanastatin [J]. *J Am Chem Soc*, 1978, 100(8): 2575-2576.
- [3] Polonsky J, Varon Z, Arnoux B, et al. Antineoplastic agents. 61. Isolation and structure of amoorastatin [J]. *J Am Chem Soc*, 1978, 100(24): 7731-7733.
- [4] Zhang Y, Wang J S, Gu Y C, et al. Ring A rearranged limonoids from the fruits of *Aphanamixis grandifolia* and their cytotoxicity evaluation [J]. *Phytochem Lett*, 2013, 6(4): 539-543.
- [5] Zeng Q, Guan B, Ren J, et al. Aphanamgrandiol A, a new triterpenoid with a unique carbon skeleton from *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 86: 217-221.
- [6] Liu J, He X F, Wang G H, et al. Aphadilactones A-D, four diterpenoid dimers with DGAT inhibitory and antimalarial activities from a Meliaceae plant [J]. *J Org Chem*, 2014, 79(2): 599-607.
- [7] Nishizawa M, Inoue A, Hayashi Y, et al. Structure of aphanamols I and II [J]. *J Org Chem*, 1984, 49(19): 3660-3662.
- [8] 陈彦伍, 董发武, 秦天丽, 等. 大叶山楝萜类化学成分

- 及其生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5621-5631.
- [9] Zhang H Y, Yuan C M, Cao M M, *et al.* New acyclic diterpenoids from the fruits of *Aphanamixis grandifolia* and structure revision of nemoralisin B [J]. *Phytochem Lett*, 2014, 8: 81-85.
- [10] Zhang H J, Luo J, Shan S M, *et al.* Aphanamenes A and B, two new acyclic diterpene[4 + 2]-cycloaddition adducts from *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Org Lett*, 2013, 15(21): 5512-5515.
- [11] Zhang H J, Zhang Y M, Luo J G, *et al.* Anti-inflammatory diterpene dimers from the root barks of *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13(27): 7452-7458.
- [12] Fang F H, Huang W J, Zhou S Y, *et al.* Aphapolins A and B: Two nemoralisin diterpenoids isolated from *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. parker [J]. *Eur J Org Chem*, 2017, 2017(30): 4429-4433.
- [13] Zhang R, He H P, Di Y T, *et al.* Chemical constituents from *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 92: 100-104.
- [14] Jagetia G C, Venkatesha V A. Treatment of mice with stem bark extract of *Aphanamixis polystachya* reduces radiation-induced chromosome damage [J]. *Int J Radiat Biol*, 2006, 82(3): 197-209.
- [15] Zhang Y, Wang J S, Wei D D, *et al.* Bioactive terpenoids from the fruits of *Aphanamixis grandifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(6): 1191-1195.
- [16] 魏涵, 吴光华, 杨嫻, 等. 华南毛蕨叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2354-2357.

[责任编辑 王文倩]