

• 化学成分 •

杨树桑黄化学成分研究

任航洁, 陶玉佳, 李 刚, 李华强, 秦路平*, 施 琦*

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311403

摘要: 目的 研究杨树桑黄 *Sanguangporus vaninii* 的化学成分及其对肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导人类风湿性关节炎成纤维细胞 MH7A 的活性。方法 运用多种分离技术, 包括硅胶柱色谱、ODS 柱色谱及半制备高效液相色谱等, 进行分离纯化; 采用 UV、IR、HRESIMS、NMR、碳谱计算和 ECD 等波谱技术鉴定化合物结构; 采用 CCK-8 法评价倍半萜化合物抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导的 MH7A 细胞增殖的活性, 以及 ELISA 法检测炎症因子白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 水平。结果 从杨树桑黄 95%乙醇提取物中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 (4*S*,5*S*,6*R*)-2-甲基-5,6-二羟基-[*R*-6-(4-羟甲基)-3-环己烯]-呋喃-2(5*H*)-酮 (1)、phellilane D (2)、phellilane C (3)、(+)- γ -ionylideneacetic acid (4)、elgonene A (5)、3*E*-4-(3,4-二羟苯基)-3-丁烯-2-酮 (6)、3,4-二羟基苯甲酸乙酯 (7)、*E*-4-对羟基苯基-3-丁烯-2-酮 (8) 和原儿茶醛 (9)。化合物 1、3 和 4 在 20 μ mol/L 浓度内均能显著抑制 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞增殖, 在 20 μ mol/L 时其抑制率分别为 (38.9 \pm 1.32)%、(46.21 \pm 0.86)% 和 (36.59 \pm 1.51)%; 化合物 1、3 和 4 均能显著降低 TNF- α 诱导后的 MH7A 细胞 IL-6 和 IL-1 β 的生成量。结论 化合物 1~5 为没药烷型倍半萜化合物, 6~9 为苯酚类化合物, 其中化合物 1 为新的倍半萜化合物, 命名为杨树桑黄萜素 Q; 化合物 7 为首次从杨树桑黄中分离得到。化合物 1、3 和 4 均能显著抑制 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞增殖并具有抗炎活性。

关键词: 桑黄; 倍半萜; 苯酚类化合物; 抗风湿关节炎; 杨树桑黄萜素 Q; phellilane C; (+)- γ -ionylideneacetic acid

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)03-0799-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.03.002

Chemical constituents of *Sanguangporus vaninii*

REN Hangjie, TAO Yujia, LI Gang, LI Huangqiang, QIN Luping, SHI Qi

College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311403, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from *Sanguangporus vaninii* and their activity against tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced human rheumatoid arthritis fibroblast synovial cells (MH7A). **Methods** Isolation and purification were carried out by using various separation techniques such as silica gel, ODS column chromatography, and semi-preparative high-performance liquid chromatography. The structures of isolated compounds were elucidated through comprehensive spectroscopic analyses, such as UV, IR, HRESIMS, NMR, carbon spectrum calculation and ECD. Meanwhile, the activity of sesquiterpene compounds in inhibiting the proliferation of MH7A cells induced by TNF- α was evaluated by the CCK-8 method and the levels of inflammatory cytokines IL-6 and IL-1 β were detected by ELISA. **Results** A total of nine compounds were isolated from 95% ethanol extract of *S. vaninii* and were identified as (4*S*,5*S*,6*R*)-2-methyl-5,6-dihydroxy-[*R*-6-(4-hydroxymethyl)-3-cyclohexene]-furan-2(5*H*)-one (1), phellilane D (2), phellilane C (3), (+)- γ -ionylideneacetic acid (4), elgonene A (5), (3*E*)-4-(3,4-dihydroxyphenyl)-but-3-en-2-one (6), 3,4-dihydroxybenzoate (7), (*E*)-4-(4-hydroxyphenyl)but-3-en-2-one (8), protocathechualdehyde (9), respectively. The bioactivity results showed that compounds 1, 3 and 4 significantly inhibited the proliferation of TNF- α -induced MH7A cells within 20 μ mol/L, and the inhibition rates were (38.9 \pm 1.32)%, (46.21 \pm 0.86)% and (36.59 \pm 1.51)% at 20 μ mol/L, respectively. Furthermore, the ELISA results showed they effectively reduced the production of IL-6 and IL-1 β on TNF- α -induced MH7A cells. **Conclusion**

收稿日期: 2025-12-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (U2202213); 国家自然科学基金资助项目 (32470428)

作者简介: 任航洁, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: renhangjie@126.com

*通信作者: 施 琦, 讲师, 从事中药药效成分分析。E-mail: mikaelforget@163.com

秦路平, 教授, 博士生导师, 从事中药资源品质评价与开发利用。E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

Compounds **1**—**5** were identified as bisabolane type sesquiterpenoids and **6**—**9** were identified as phenols. Compound **1** was a new sesquiterpenoid and named as phellilane Q, Compound **7** was first isolated from *S. vaninii*. Compounds **1**, **3** and **4** significantly suppressed the proliferation of TNF- α -induced MH7A cells and demonstrated anti-inflammatory effects.

Key words: *Sanghuangporus vaninii* (Ljub) L. W. Zhou et Y. C. Dai; sesquiterpenoids; phenols; anti-rheumatoid arthritis; phellilane Q; phellilane C; (+)- γ -ionylideneacetic acid

桑黄 *Sanghuangporus* spp. 为锈革孔菌科和桑黄孔菌属真菌寄生在多种植物上的高等真菌，因其具有较高药用价值在我国民间被广泛应用。根据寄主植物不同，桑黄可分为桑树桑黄、杨树桑黄、漆树桑黄、锦带花桑黄和栎树桑黄等^[1]。杨树桑黄又名瓦尼桑黄，简称杨黄，为锈革孔菌科真菌瓦尼桑黄 *S. vaninii* (Ljub) L. W. Zhou et Y. C. Dai 寄生在杨树而得名。杨树桑黄性寒，味甘、辛，归肝、肾、胃、大肠经，具有活血止血、和胃止泻、软坚散结的功效，可用于崩漏带下、脾虚泄泻、癥瘕积聚^[2-3]。现代研究表明，杨树桑黄富含多糖、多酚类、萜类等成分，具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、降血糖等多种生物活性^[4-9]。目前杨树桑黄的化学成分及药理活性研究尚不深入，为进一步揭示杨树桑黄中的化学成分并阐释其药理作用，本研究以杨树桑黄子实体的 95% 乙醇提取物为研究对象，综合运用多种色谱分离技术挖掘杨树桑黄中的化学成分，从中分离得到 9 个化合物，分别鉴定为 (4*S*,5*S*,6*R*)-2-甲基-5,6-二羟基-[*R*-6-(4-羟甲基)-3-环己烯]-呋喃-2(5*H*)-酮 [(4*S*,5*S*,6*R*)-2-methyl-5,6-dihydroxy-[*R*-6-(4-hydroxymethyl)-3-cyclohexene]-furan-2(5*H*)-one **1**]、phellilane D (**2**)、phellilane C (**3**)、(+)- γ -ionylideneacetic acid (**4**)、elgonene A (**5**)、(3*E*)-4-(3,4-二羟基苯基)-3-丁烯-2-酮 [(3*E*)-4-(3,4-dihydroxyphenyl)but-3-en-2-one, **6**]、3,4-二羟基苯甲酸乙酯 (3,4-dihydroxybenzoic acid ether, **7**)、*E*-4-对羟基苯基-3-丁烯-2-酮 [(*E*)-4-(4-hydroxyphenyl)but-3-en-2-one, **8**] 和原儿茶醛 (protocatechualdehyde, **9**)。化合物 **1**—**5** 为没药烷型倍半萜化合物，**6**—**9** 为苯酚类化合物，其中化合物 **1** 为 1 个新的倍半萜类化合物，命名为杨树桑黄萜素 Q，结构见图 1。本研究对所分离的倍半萜进行了人类风湿性关节炎成纤维细胞 (MH7A) 增殖抑制活性测试，结果表明化合物 **1**、**3** 和 **4** 具有较好的抗炎活性。

1 材料与仪器

1.1 仪器与耗材

AB SCIEX AB 7600 型质谱仪 (美国 AB SCIEX

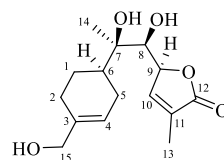


图 1 化合物 **1** 的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of compound **1**

公司); Bruker AM-600 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); Nicolet IS50 型红外光谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); UV-3600i plus 紫外可见近红外分光光度计 (日本岛津公司); AUTOPOL IV-T 型全自动旋光仪 (美国 Rudolph Research Analytical 公司); 圆二色光谱仪 (英国 Applied photophysics 公司); LC-2010 型高效液相色谱仪 (武汉睿合色谱技术有限公司)。INFINITE E PLEX 型酶标仪 (瑞士 TECAN 公司); 高压蒸汽灭菌锅 [普和希健康医疗器械 (上海) 有限公司]。

柱色谱硅胶 (80~120、200~300 目, 青岛海洋化工有限公司); 反相硅胶 RP-C₁₈ (250 mm×10 mm, 5 μ m, 月旭科技上海有限股份公司); ODS (50 μ m, 日本 YMC 公司); 薄层色谱硅胶板 (GF₂₅₄, 烟台化工研究所); 乙醇、石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯等分析纯试剂 (国药集团化学试剂有限公司); 色谱乙腈和色谱甲醇 (美国天地公司)。DEME 培养基、10% 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、甲氨蝶呤 (武汉吉立德生物科技有限公司); CCK-8 试剂盒 (白鲨生物科技有限公司); MH7A 细胞株购自中国科学院上海细胞库; 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA 试剂盒 (南京建成科技有限公司)。

1.2 材料

杨树桑黄样品于 2024 年购于浙江千济方医药科技有限公司 (批号 20240613), 经浙江中医药大学药学院张巧艳教授鉴定为锈革孔菌科真菌瓦尼桑黄 *S. vaninii* (Ljub) L. W. Zhou et Y. C. Dai 的干燥子实体。植物标本凭证 (LHQ-RHJ-2024-7) 存放于浙江中医药大学药学院中药资源与生药学教研室 4A402 室。

2 方法

2.1 提取与分离

取干燥杨树桑黄子实体 (10.0 kg) 打粉过 60 目筛后, 以 95% 乙醇 50℃ 加热浸泡 12 h 提取, 重复 3 次, 合并提取液减压浓缩得乙醇提取浸膏 (275.5 g)。采取溶剂萃取法对提取浸膏依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇进行萃取, 得到石油醚部位 27.5 g、醋酸乙酯部位 108.5 g 和正丁醇部位 120.8 g。

醋酸乙酯萃取部位采用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到 10 个组分 (Fr. A~J)。Fr. B (4.4 g) 采用硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (10:0→0:1) 梯度洗脱, 薄层色谱分析合并后得到 5 个组分 (Fr. B1~B5)。Fr. B3 (299 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 50:50→100:0, 2.0 mL/min, $t_R=60.0$ min) 分离得到 7 个组分 (Fr. B3.1~B3.7)。Fr. B3.2 (33.6 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 38:62, 2.0 mL/min) 纯化得到化合物 **8** (4.8 mg, $t_R=24.1$ min) 和 **7** (11.3 mg, $t_R=28.1$ min)。Fr. B3.5 (28.5 mg) 经半制备型高效液相 (乙腈-水 58:42, 2.0 mL/min) 得到化合物 **4** (3.9 mg, $t_R=79.1$ min)。Fr. B4 (2 073.0 mg) 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (40:60→100:0) 梯度洗脱得到 6 个组分 (Fr. B4.1~B4.6)。Fr. B4.1 (277.1 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 24:76, 2.0 mL/min) 分离得到 7 个组分 (Fr. B4.1.1~B4.1.7)。Fr. B4.1.2 (59.5 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 20:80, 2.0 mL/min) 分离纯化得到化合物 **9** (5.9 mg, $t_R=48.1$ min)。Fr. B4.2 (60.1 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 45:55, 2.0 mL/min) 分离纯化得到化合物 **6** (21.1 mg, $t_R=46.3$ min)。Fr. B4.3 (200.7 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 52:48, 2.0 mL/min) 分离得到 7 个组分 (Fr. B4.3.1~B4.3.8)。Fr. B4.3.1 (32.3 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 27:73, 2.0 mL/min) 分离纯化得到化合物 **5** (6.4 mg, $t_R=26.0$ min)。Fr. B4.4 (302.4 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 55:45, 2.0 mL/min) 分离得到 6 个组分 (Fr. B4.2.1~B4.2.6)。Fr. B4.4.3 (43.5 mg) 经半制备型高效液相 (乙腈-水 24:76, 2.0 mL/min) 分离纯化得到化合物 **3** (27.6 mg, $t_R=27.8$ min)。Fr. D (14.1 g) 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (20:80→100:0) 梯度洗脱分离得到 9 个组分 (Fr. D1~D9)。Fr. D2 (304.8 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 26:74, 2.0 mL/min) 分离得到 5 个组分 (Fr.

D2.1~D2.5)。Fr. D2.3 (241.2 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 26:74, 2.0 mL/min) 分离纯化得到化合物 **1** (7.7 mg, $t_R=55.2$ min)。Fr. D2.4 (41.1 mg) 经半制备型高效液相 (甲醇-水 25:75, 2.0 mL/min) 分离纯化得到化合物 **2** (7.8 mg, $t_R=67.8$ min)。

2.2 倍半萜化合物对 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞增殖抑制及炎症因子的作用

首先, 采用 CCK-8 法测定分离的 5 个倍半萜类化合物对 MH7A 的细胞毒活性。将 MH7A 细胞按照每孔 5×10^3 个/孔接种至 96 孔板后在 37℃、5% CO₂ 培养 24 h。设空白对照组和浓度分别为 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 的 3 个浓度给药组, 每组设 3 个复孔, 置于 5% CO₂ 的 37℃ 恒温箱中培养。24 h 后每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 在 37℃ 条件下孵育 1 h 后, 用酶标仪在 450 nm 处检测各孔的吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

其次, 采用 CCK8 法测定化合物对 TNF- α 诱导 MH7A 细胞增殖抑制活性^[10]。以甲氨蝶呤为阳性对照药物, MH7A 细胞在含 10% 胎牛血清的 DMEM 中, 于 37.0℃、5% CO₂ 条件下培养, 接种到 96 孔板中 (5×10^3 个/孔), 然后用 TNF- α (10 ng/mL) 刺激 12 h, 加入 5 $\mu\text{mol/L}$ 阳性药甲氨蝶呤和 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 的 3 个浓度待测样品进行培养。24 h 后每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 在 37℃ 条件下孵育 1 h, 用酶标仪在 450 nm 处检测各孔的 A 值, 按公式计算细胞的增殖抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{给药}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{空白}})$$

进一步采用 ELISA 法评价 TNF- α 诱导 MH7A 细胞炎症因子 IL-6 和 IL-1 β 水平^[10], 用 TNF- α 诱导 MH7A 细胞后, 分组培养方法同上述, 培养后收集各组细胞上清液, 按照试剂盒说明书测定上清液中 IL-6、IL-1 β 的含量水平, 用酶标仪在 450 nm 处检测各孔的 A 值, 根据标准曲线计算浓度。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定型粉末; $[\alpha]_D^{25} +3.78$ (c 0.30, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210 (4.06); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3421, 2923, 1742, 1655, 1382, 1107, 1048; ECD (MeOH) λ_{max} : 218 (+9.72) nm; HR-ESI-MS m/z : 305.136 8 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (计算值 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_5\text{Na}^+$, 305.136 5)。结合该化合物氢谱和碳谱确定其分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_5$, 不饱和度为 5。IR 吸收峰提示化合物中存在羟基 (3421 cm^{-1}) 和羰基 (1742 cm^{-1})。¹H-NMR 谱 (表 1) 显

示 2 个烯烃氢 [δ_{H} 7.39 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-10)] 和 [δ_{H} 5.69 (1H, m, H-4)], 2 个单峰甲基 [δ_{H} 1.89 (3H, s, Me-13)] 和 [δ_{H} 1.21 (3H, s, Me-14)] 信号。 ^{13}C -NMR 和 DEPT 谱显示, 该化合物含有 15 个碳信号, 包括 2 个甲基, 4 个亚甲基 (1 个氧化亚甲基 δ_{C} 67.2), 5 个次甲基 (2 个氧化次甲基 δ_{C} 83.6 和 76.1) 和 4 个季碳 (1 个酯羰基碳 δ_{C} 176.7, 2 个双键碳 δ_{C} 138.4 和 131.2, 1 个氧化碳 δ_{C} 76.2)。由此明确化

表 1 化合物 1 的 ^1H 和 ^{13}C -NMR (600/150 MHz, CD_3OD)

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR data of compound 1 (600/150 MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1	1.34 (m), 1.87 (overlapped)	25.0, CH_2
2	2.13 (overlapped), 2.13 (overlapped)	27.4, CH_2
3		138.4, C
4	5.69 (m)	123.4, CH
5	2.04 (overlapped), 2.21 (overlapped)	26.6, CH_2
6	1.85 (overlapped)	42.4, CH
7		76.2, C
8	3.88 (d, $J = 3.6$ Hz)	76.1, CH
9	5.25 (dp, $J = 3.6, 1.8$ Hz)	83.6, CH
10	7.39 (m)	150.1, CH
11		131.2, C
12		176.7, C
13	1.89 (d, $J = 1.8$ Hz)	10.6, CH_3
14	1.21 (s)	20.0, CH_3
15	3.92 (overlapped), 3.92 (overlapped)	67.2, CH_2

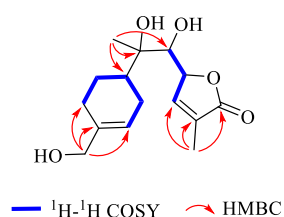


图 2 化合物 1 的关键 ^1H - ^1H COSY、HMBC 和 NOESY 相关信号

Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC and NOESY correlations of compound 1

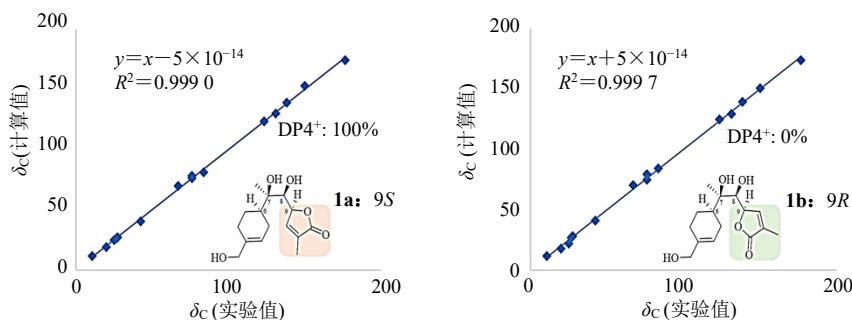


图 3 化合物 1 的 2 种构型 ^{13}C -NMR 计算及其 DP4 $^+$ 概率分析

Fig. 3 ^{13}C -NMR chemical calculations for two configurations and their DP4 $^+$ probability analyses for compound 1

合物 1 具有 2 个环。将化合物 1 的 ^1H 和 ^{13}C -NMR 数据与文献报道比对^[10]发现, 1 与 phellilane D 大部分数据相近, 但化合物多了 1 个氧化亚甲基 [δ_{H} 3.92 (2H, m), δ_{C} 67.2], 少了 1 个羧基, 因此初步判断, 化合物 1 为结构相似的没药烷型倍半萜化合物。

在化合物 1 的 HMBC 谱中 (图 2), H_2 -15 与 C-2、C-3、C-4 相关, Me-14 与 C-6、C-7、C-8 相关。 ^1H - ^1H COSY 中可以发现 1 个自旋偶合片段 H_2 -2/ H_2 -1/H-6/ H_2 -5/H-4 以及 C-15 [δ_{H} 3.92 (2H, m), δ_{C} 67.2]。由此表明, 化合物 1 的 C-15 为羟甲基。综上, 确定了化合物 1 的平面结构, 见图 1。

在化合物 1 的 NOESY 谱中 (图 2), Me-14 与 H-1 (δ_{H} 1.34) 相关, 因此 Me-14 与 C-1 同侧。Me-14 与 H-9 相关, H-6 与 H-9 相关, 表明 Me-14、H-6 和 H-9 处于同面。考虑到 C₆-C₇-C₈-C₉ 的旋转性及 Me-14 与 H-8 的 NOESY 相关性, C-9 的相对构型存在 2 种可能 (1a 和 1b, 图 2), 因此, 采用 DP4 $^+$ 进行碳谱计算, 结果显示构型 1a ($6R^*, 7R^*, 8S^*, 9S^*$) 的碳谱计算值与实验值符合度更好 ($R^2 = 0.999\ 0$) (图 3), 因此, 确定化合物 1 的相对构型为 $6R^*, 7R^*, 8S^*, 9S^*$ 。ECD 计算 (图 4) 结果表明, 化合物 1 的实验 ECD 趋势与计算 ECD ($6R, 7R, 8S, 9S$ -1) 基本一致, 确定了化合物 1 的绝对构型为 $6R, 7R, 8S, 9S$ 。经 SCI Finder 查询, 该化合物为新化合物, 命名为杨树桑黄萜素 Q。

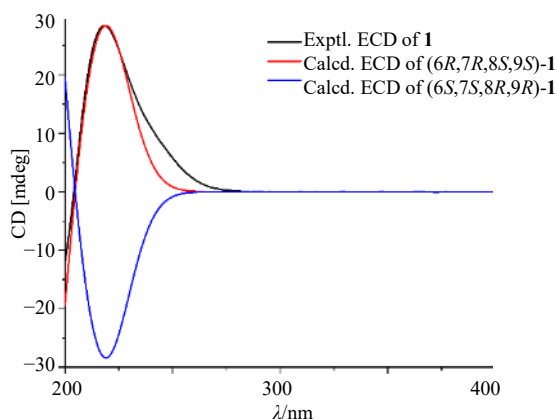


图 4 化合物 1 的实验和计算 ECD 谱
Fig. 4 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

化合物 2: 白色无定型粉末; HR-ESI-MS m/z : 319.116 1 $[M+Na]^+$ (计算值 $C_{15}H_{20}O_6Na^+$, 319.115 8) 确定分子式为 $C_{15}H_{20}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.39 (1H, q, $J = 1.7$ Hz, H-10), 7.01 (1H, dd, $J = 5.3$, 2.9 Hz, H-4), 5.26 (1H, dp, $J = 3.7$, 1.8 Hz, H-9), 3.88 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-8), 2.44 (2H, m, H-2b, 5b), 2.23 (2H, m, H-2a, 5a), 1.94 (1H, m, H-1b), 1.90 (3H, t, $J = 1.7$ Hz, Me-13), 1.85 (1H, ddd, $J = 11.2$, 5.0, 2.5 Hz, H-6), 1.32 (1H, m, H-1a), 1.23 (3H, s, Me-14); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 177.5 (C-12), 171.9 (C-15), 151.0 (C-10), 141.9 (C-4), 132.3 (C-3), 132.1 (C-11), 84.5 (C-9), 77.0 (C-8), 76.8 (C-7), 42.5 (C-6), 28.6 (C-2), 27.1 (C-5), 25.4 (C-1), 20.1 (C-14), 11.5 (C-13)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析并将所有数据与文献数据相对比^[11], 确定化合物为 phellilane D。

化合物 3: 白色无定型粉末; HR-ESI-MS m/z : 289.141 9 $[M+Na]^+$, 确定其分子式为 $C_{15}H_{22}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.32 (1H, m, H-10), 5.44 (1H, m, H-4), 5.09 (1H, dp, $J = 3.9$, 1.8 Hz, H-9), 3.97 (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-8), 2.18 (1H, d, $J = 16.5$ Hz, H-5b), 2.03 (1H, m, H-2b), 1.98 (2H, m, H-2a, 5a), 1.92 (3H, t, $J = 1.8$ Hz, H-13), 1.82 (1H, overlapped, H-1b), 1.71 (1H, m, H-6), 1.65 (3H, s, Me-15), 1.35 (1H, overlapped, H-1a), 1.24 (3H, s, Me-14); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.3 (C-12), 147.2 (C-10), 133.7 (C-3), 130.6 (C-11), 120.5 (C-4), 80.9 (C-9), 75.9 (C-7), 74.7 (C-8), 39.9 (C-6), 30.6 (C-2), 25.6 (C-5), 24.4 (C-1), 20.4 (C-14), 23.2 (C-15), 10.7 (C-13)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析, 并与文献数据相对

比^[11], 确定化合物为 phellilane C。

化合物 4: 无色油状物, $[\alpha]_D^{25} + 13.57$ (c 0.17, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 235.169 2 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{15}H_{22}O_2$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.28 (1H, dd, $J = 15.5$, 9.6 Hz, H-7), 6.12 (1H, d, $J = 15.5$ Hz, H-8), 5.75 (1H, s, H-10), 4.76 (1H, s, H-14b), 4.53 (1H, s, H-14a), 2.54 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-6), 2.29 (3H, s, Me-15), 2.28 (1H, m, H-4b), 2.04 (1H, m, H-4a), 1.59 (2H, m, H-3), 1.50 (1H, m, H-2b), 1.34 (1H, ddd, $J = 13.7$, 8.7, 5.1 Hz, H-2a), 0.89 (3H, s, Me-12), 0.83 (3H, s, Me-13); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 172.9 (C-11), 154.8 (C-9), 149.5 (C-5), 137.1 (C-7), 135.4 (C-8), 117.6 (C-10), 109.0 (C-14), 58.0 (C-6), 39.0 (C-2), 35.7 (C-1), 34.4 (C-4), 29.4 (C-12), 23.6 (C-13), 23.2 (C-3), 14.2 (C-15)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析并将所有数据与文献数据相对比^[12], 确定化合物 4 为 (+)- γ -ionylideneacetic acid。

化合物 5: 黄色油状物; HR-ESI-MS m/z : 249.330 0 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{15}H_{20}O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.11 (1H, m, H-10), 5.52 (1H, m, H-4), 5.31 (1H, s, H-14b), 5.19 (1H, s, H-14a), 4.92 (1H, m, H-9), 4.31 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-8), 2.22 (1H, m, H-6), 2.17 (2H, m, H-2b, 5b), 2.01 (3H, m, H-2a, 5a, 1b), 1.95 (3H, s, Me-15), 1.76 (3H, s, Me-13), 1.63 (1H, m, H-1a); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 173.9 (C-12), 151.3 (C-7), 145.8 (C-10), 131.6 (C-3), 129.9 (C-11), 123.6 (C-4), 112.2 (C-14), 82.4 (C-9), 73.2 (C-8), 36.2 (C-6), 31.5 (C-5), 29.8 (C-2), 27.2 (C-1), 22.7 (C-13), 10.8 (C-15)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析并将所有数据与文献数据相对比^[13], 确定化合物为 elgonene A。

化合物 6: 黄色晶体 (甲醇), mp 178~179 $^{\circ}C$; HR-ESI-MS m/z : 179.195 0 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_{10}H_{10}O_3$ 。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.52 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-4), 7.08 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.99 (1H, dd, $J = 8.2$, 2.1 Hz, H-10), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-9), 6.55 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-3), 2.34 (3H, s, Me-1); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 201.6 (C-2), 150.0 (C-8), 146.9 (C-4), 146.9 (C-7), 127.7 (C-5), 124.7 (C-10), 123.5 (C-3), 115.3 (C-6), 116.6 (C-9), 27.0 (C-1)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析并将所有数据与文献数据相对比^[14], 确定化合物 6 为 3E-4-(3,4-二羟苯基)-3-丁烯-2-酮。

化合物 7: 白色无定型粉末; HR-ESI-MS m/z :

183.183 0 $[M+H]^+$, 确定其分子式为 $C_9H_{10}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.32 (1H, dd, $J=8.1, 2.1$ Hz, H-2), 7.30 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.70 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 4.19 (2H, q, $J=7.1$ Hz, H-8), 1.25 (3H, t, $J=7.1$ Hz, Me-9); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 168.4 (C-7), 151.6 (C-4), 146.2 (C-3), 123.5 (C-1), 122.9 (C-6), 117.4 (C-5), 115.8 (C-2), 61.7 (C-8), 14.6 (C-9)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析并将所有数据与文献数据相对比^[15], 确定化合物 7 为 3,4-二羟基苯甲酸乙酯。

化合物 8: 淡黄色无定型粉末; HR-ESI-MS m/z : 161.180 0 $[M-H]^-$, 确定其分子式为 $C_{10}H_{10}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.49 (1H, d, $J=16.2$ Hz, H-4), 7.45 (2H, d, $J=8.3$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J=8.3$ Hz, H-3', 5'), 6.61 (1H, d, $J=16.2$ Hz, H-3), 2.38 (3H, s, Me-1); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 199.5 (C-2), 158.6 (C-4'), 144.2 (C-4), 130.4 (C-2', 6'), 126.9 (C-1'), 124.8 (C-3), 116.2 (C-3', 5'), 27.4 (C-1)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析并将所有数据与文献数据相对比^[16], 确定化合物 8 为 *E*-4-对羟基苯基-3-丁烯-2-酮。

化合物 9: 黄色无定型粉末; HR-ESI-MS m/z : 137.114 0 $[M-H]^-$, 确定其分子式为 $C_7H_6O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 9.66 (1H, s), 7.28 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6), 7.27 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.88 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 193.0 (C-7), 153.7 (C-4), 147.2 (C-3), 130.9 (C-1), 126.4 (C-6), 116.3 (C-5), 115.3 (C-2)。结合 1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据分析并将所有数据与文献数据相对比^[17], 确定化合物 9 为原儿茶醛。

3.2 倍半萜类化合物对 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞增殖抑制及炎症因子的作用

细胞毒活性结果显示 (图 5), 在 20 $\mu mol/L$ 测试化合物对 MH7A 细胞存活率均高于 90%, 表明

所有化合物在该浓度内无明显毒性。化合物对 TNF- α 诱导 MH7A 细胞增殖抑制活性实验 (图 6) 显示, 在浓度为 5~20 $\mu mol/L$, 化合物 1、3 和 4 均能以剂量相关性显著抑制 TNF- α 诱导后的 MH7A 细胞增殖, 在 20 $\mu mol/L$ 时抑制率分别达到 $(38.90 \pm 1.32)\%$ 、 $(46.21 \pm 0.86)\%$ 和 $(36.59 \pm 1.51)\%$; 在 TNF- α 诱导后的 MH7A 细胞 IL-6、IL-1 β 炎症因子测试实验中 (图 7), 化合物 1、3 和 4 均能明显降

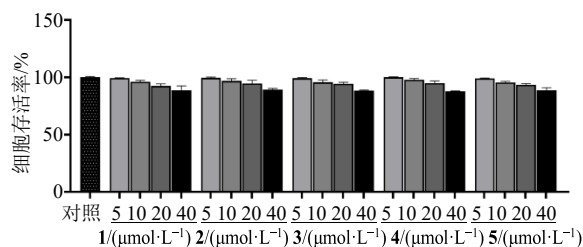
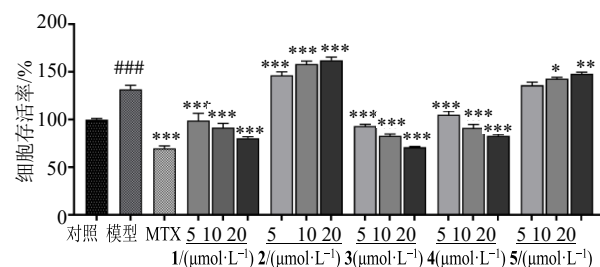


图 5 化合物 1~5 在不同浓度下对 MH7A 的细胞毒性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Evaluation of cytotoxicity of compounds 1-5 against MH7A cells at different concentrations

($\bar{x} \pm s, n=3$)



与模型组相比: ### $P<0.001$; 与模型组相比: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$, 图 7 同。

$P<0.001$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group, same as Fig. 7.

图 6 化合物 1~5 在 5、10、20 $\mu mol/L$ 浓度下对 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Inhibition of TNF- α -induced MH7A proliferation by compounds 1-5 at 5, 10 and 20 $\mu mol/L$ ($\bar{x} \pm s, n=3$)

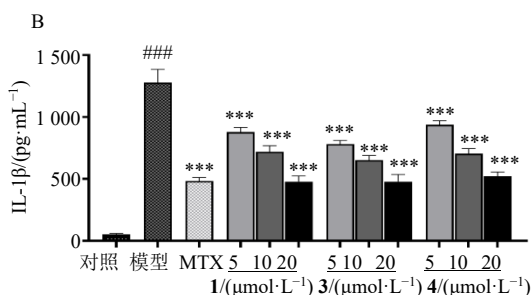
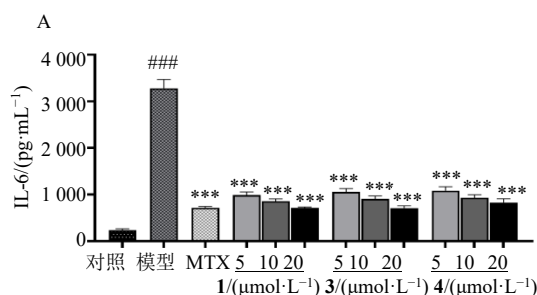


图 7 化合物 1、3 和 4 对 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞中 IL-6 (A) 和 IL-1 β (B) 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 7 Effect of compounds 1, 3 and 4 on IL-6 (A) and IL-1 β (B) levels in TNF- α induced MH7A cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

低 IL-6、IL-1 β 的生成量, 表明三者具有抗炎活性。

4 讨论

本研究采用硅胶柱色谱、ODS 柱色谱、半制备高效液相色谱等多种分离技术对杨树桑黄的乙醇提取物进行了化学成分研究, 采用 NMR、HRESIMS、碳谱计算和 ECD 等波谱解析技术鉴定出 9 个化合物, 化合物 1~5 为没药烷型倍半萜化合物, 6~9 为苯酚类化合物, 其中化合物 1 为新的没药烷型倍半萜, 命名为杨树桑黄萜素 Q, 化合物 7 为首次从杨树桑黄中分离得到。通过 CCK-8 法评价化合物抑制 TNF- α 诱导 MH7A 细胞增殖的活性, 以及 ELISA 法检测炎症因子 IL-6 和 IL-1 β 含量水平, 实验结果显示化合物 1、3 和 4 均能显著抑制 TNF- α 诱导的 MH7A 细胞增殖并具有较好的抗炎活性, 表明 3 个化合物具有潜在的抗类风湿关节炎作用。本研究进一步丰富了杨树桑黄化学成分数据, 也为杨树桑黄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] 南京中医药大学. 中药大辞典 (全 2 册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 2784.
- [2] 张越, 方锦, 姚亮, 等. 桑黄药材的历史沿革与变迁 [J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(11): 5713-5718.
- [3] 吉林省中药材标准 [S]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2020: 216-221.
- [4] Cheng J W, Wang Y B, Song J L, et al. Characterization, immunostimulatory and antitumor activities of a β -galactoglucofurannan from cultivated *Sanghuangporus vaninii* under forest [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 1058131.
- [5] Gao H, Yin C M, Li C, et al. Phenolic profile, antioxidation and anti-proliferation activity of phenolic-rich extracts from *Sanghuangporus vaninii* [J]. *Curr Res Food Sci*, 2023, 6: 100519.
- [6] He P Y, Hou Y H, Yang Y, et al. The anticancer effect of extract of medicinal mushroom *Sanghuangprouus vaninii* against human cervical cancer cell via endoplasmic reticulum stress-mitochondrial apoptotic pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114345.
- [7] Huang Z R, Huang Q Z, Chen K W, et al. *Sanghuangporus vaninii* fruit body polysaccharide alleviates hyperglycemia and hyperlipidemia via modulating intestinal microflora in type 2 diabetic mice [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 1013466.
- [8] Wan X L, Jin X, Xie M L, et al. Characterization of a polysaccharide from *Sanghuangporus vaninii* and its antitumor regulation via activation of the p53 signaling pathway in breast cancer MCF-7 cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 163: 865-877.
- [9] Wang H, Ma J X, Wu D M, et al. Identifying bioactive ingredients and antioxidant activities of wild *Sanghuangporus* species of medicinal fungi [J]. *J Fungi*, 2023, 9(2): 242.
- [10] 高燕萍, 吴强, 陈芳有, 等. 无尾果抗类风湿关节炎的有效部位筛选研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(4): 467-472.
- [11] Kobayashi Yoshinori, Asada Yoshihisa, Ino Chieko, et al. Oral cavity composition containing *Phellinus linteus*-derived sesquiterpene derivatives: JAPAN, JP2010047512 A [P]. 2010-03-04
- [12] Shirahata T, Ino C, Mizuno F, et al. γ -Ionylidene-type sesquiterpenoids possessing antimicrobial activity against *Porphyromonas gingivalis* from *Phellinus linteus* and their absolute structure determination [J]. *J Antibiot*, 2017, 70(5): 695-698.
- [13] Cheng T, Chepkirui C, Decock C, et al. Sesquiterpenes from an eastern African medicinal mushroom belonging to the genus *Sanghuangporus* [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(5): 1283-1291.
- [14] 莫顺燕, 杨永春, 石建功. 桑黄化学成分研究 [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1095-1097.
- [15] 项昭保, 徐一新, 陈海生, 等. 橄榄中酚类化学成分研究 [J]. 中成药, 2009, 31(6): 917-918.
- [16] 陈立, 顾谦群. 星座美洲海鞘次级代谢产物的研究 [J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2010, 40(12): 111-114.
- [17] Jeong D M, Jung H A, Kang H S, et al. Peroxynitrite scavengers from *Phellinus linteus* [J]. *Nat Prod Sci*, 2008, 14(1): 1-11.

[责任编辑 王文倩]