

## 槟榔青树皮中的化学成分及抗炎活性研究

赵晋娜<sup>1</sup>, 付 嵘<sup>1</sup>, 朴贤美<sup>2</sup>, 王金辉<sup>1\*</sup>, 王立波<sup>1\*</sup>

1. 哈尔滨医科大学药学院 药物化学与天然药物化学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150081

2. 哈尔滨医科大学药学院 药理学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150081

**摘要:** 目的 研究槟榔青 *Spondias pinnata* 树皮乙醇提取物中的化学成分, 并初步评价其抗炎活性。方法 利用多种色谱技术对提取物进行分离纯化, 采用核磁共振等光谱学技术以及 GFN2NMR 和计算化学等确定化合物的结构。通过体外脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) / $\gamma$  干扰素 (interferon gamma, IFN- $\gamma$ ) 诱导的 MH-S 炎症模型考察新化合物的抗炎活性。结果 从槟榔青树皮乙醇提取物中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 (5*R*,6*S*)-6-[(7*E*,9*R*)-9-hydroxy-10-((15*R*,16*R*)-17-butoxycarbonyl-15,16-dihydroxypropoxy)]but-7-en-7-yl]-6-hydroxy-1,1-dimethyl- cyclohexan-3-one (1)、ampelopsiosionoside (2)、(2*E*,4*E*,1'*R*,3'*S*,5'*R*,8'*S*)-dihydrophaseic acid 3'-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3)、*N*-benzoyl-*D*-phenylalanine (2*R*)-2-(benzoylamino)-3-phenylpropyl ester (4)、异落叶松树脂醇-4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 (5)、(+)-lyoniresin-4-yl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (6)、去甲氧基茨果蕨素 (7)、4'-羟基-3-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖黄酮苷 (8)、(2*S*)-2-hydroxynaringenin-4'-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (9)、(*S*)-(-)-*N*-苯甲酰苯丙氨酸 (10)。化合物 1 在 10  $\mu$ mol/L 浓度下显著抑制肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ( $P < 0.05$ ) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) ( $P < 0.01$ ) 的表达。在 20  $\mu$ mol/L 浓度下其能显著改善 LPS/IFN- $\gamma$  诱导的 MH-S 细胞形态变化。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为槟榔青素 A (spondias A); 化合物 2~4、7~10 为首次从该属中分离得到, 化合物 5~6 为首次从该植物中分离得到。活性实验结果表明化合物 1 可抑制 MH-S 细胞向 M1 表型转化, 具有潜在的抗炎活性。

**关键词:** 槟榔青; 抗炎活性; 槟榔青素 A; 去甲氧基茨果蕨素; 4'-羟基-3-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖黄酮苷; (*S*)-(-)-*N*-苯甲酰苯丙氨酸

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253 - 2670(2026)11 - 4096 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.11.002

## Chemical constituents from barks of *Spondias pinnata* and their anti-inflammatory activities

ZHAO Jinna<sup>1</sup>, FU Rong<sup>1</sup>, PIAO Xianmei<sup>2</sup>, WANG Jinhui<sup>1</sup>, WANG Libo<sup>1</sup>

1. Department of Medicinal Chemistry and Natural Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, China.

2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081, China

**Abstract: Objective** To investigate the chemical constituents from the ethanol extract of the bark of *Spondias pinnata* and preliminarily evaluate their anti-inflammatory activity. **Methods** Various chromatographic techniques were employed to isolate and purify the constituents from the extract. Their structures were elucidated by spectroscopic methods including NMR spectroscopy, as well as GFN2NMR and computational chemistry approaches. The anti-inflammatory activity of the new compound was evaluated using an LPS/IFN- $\gamma$ -induced MH-S cell inflammation model *in vitro*. **Results** Ten compounds were isolated from the ethanol extract of the bark of *S. pinnata* and identified as (5*R*,6*S*)-6-[(7*E*,9*R*)-9-hydroxy-10-((15*R*,16*R*)-17-butoxycarbonyl-15,16-dihydroxypropoxy)]but-7-en-7-yl]-6-hydroxy-1,1-dimethylcyclohexan-3-one (1), ampelopsiosionoside (2), (2*E*,4*E*,1'*R*,3'*S*,5'*R*,8'*S*)-dihydrophaseic acid 3'-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3), *N*-benzoyl-*D*-phenylalanine (2*R*)-2-(benzoylamino)-3-phenylpropyl ester (4), isolaricresinol-4-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (5), (+)-lyoniresin-4-yl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (6), demethoxymatteucinol (7), 4'-hydroxy-3-

收稿日期: 2026-03-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81202418); 黑龙江省中医药管理局科研项目 (ZHY2024-134)

作者简介: 赵晋娜, 女, 博士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: jinna0902@163.com

\*通信作者: 王立波, 女, 博士, 硕士生导师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: wanglibo66@sina.com

王金辉, 男, 博士, 博士生导师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 15999290001@163.com

*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside flavone (8), (2*S*)-2-hydroxynaringenin-4'-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (9), and (*S*)-(-)-*N*-benzoylphenylalaninol (10). Compound 1 significantly inhibited the expression of TNF- $\alpha$  ( $P < 0.05$ ) and IL-6 ( $P < 0.01$ ) at a concentration of 10  $\mu$ mol/L. Moreover, at 20  $\mu$ mol/L, it markedly ameliorated the LPS/IFN- $\gamma$ -induced morphological changes in MH-S cells. **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named as spondias A. Compounds 2–4 and 7–10 were isolated from the genus *Spondias* for the first time, while compounds 5–6 were obtained from this species for the first time. The bioassay results indicate that compound 1 inhibits the transformation of MH-S cells to the M1 phenotype, suggesting its potential anti-inflammatory activity.

**Key words:** *Spondias pinnata* (L. f.) Kurz.; anti-inflammatory activity; spondias A; demethoxymatteucinol; 4'-hydroxy-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside flavone; (*S*)-(-)-*N*-benzoylphenylalaninol

槟榔青树皮是漆树科 (Anacardiaceae) 槟榔青属 *Spondias* (L. f.) Kurz. 植物槟榔青 *Spondias pinnata* (L. f.) Kurz. 的树皮, 也称外木、柯增 (傣语), 广泛分布于全球热带、亚热带和温带地区。据《基诺族医药》记载, 槟榔青的果实、叶片和树皮均具有药用价值。树皮可治疗感冒、心慌。在傣医临床应用中, 槟榔青的果实和树皮被广泛应用, 具有清热解火、消肿止痛、止咳化痰等功效<sup>[1]</sup>。现代药理学研究表明, 该植物具有多种生物活性, 包括细胞毒性<sup>[2]</sup>、抗氧化<sup>[3]</sup>、肝保护<sup>[4]</sup>和抗炎<sup>[5]</sup>等作用。研究表明, 槟榔青化学成分主要包括黄酮类<sup>[6]</sup>、萜类<sup>[7]</sup>、酚酸类<sup>[7]</sup>、甾体类<sup>[8]</sup>等。但目前对槟榔青树皮化学成分系统研究的报道较少, 为了系统地阐明槟榔青树皮的抗炎活性物质基础, 从槟榔青树皮乙醇提取物中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 (5*R*,6*S*)-6-[(7*E*,9*R*)-9-hydroxy-10-({(15*R*,16*R*)-17-butoxycarbonyl-15,16-dihydroxypropoxy}) but-7-en-7-yl]-6-hydroxy-1,1-dimethylcyclohexan-3-one (1)、ampelopsioside (2)、(2*E*,4*E*,1'*R*,3'*S*,5'*R*,8'*S*)-dihydrophaseic acid 3'-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3)、*N*-benzoyl-*D*-phenylalanine (2*R*)-2-(benzoylamino)-3-phenylpropyl ester (4)、异落叶松树脂醇-4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 (isolariciresinol-4-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, 5)、(+)-lyoniresin-4-yl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (6)、去甲氧基荚果蕨素 (demethoxymatteucinol, 7)、4'-羟基-3-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖黄酮苷 (4'-hydroxy-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside flavone, 8)、(2*S*)-2-hydroxynaringenin-4'-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside (9)、(*S*)-(-)-*N*-苯甲酰苯丙氨酸 [(*S*)-(-)-*N*-benzoylphenylalaninol, 10]。化合物 1 为新化合物, 命名为槟榔青素 A (spondias A); 化合物 2~4、7~10 为首次从该属中分离得到。本研究对其化学成分进行了系统研究, 明确活性物质基础, 以期对槟榔青树皮的药用开发奠定基础。

## 1 材料与仪器

Burker 300、600 MHz 核磁共振光谱仪 (以 TMS

为内标, 瑞士 Bruker 公司), Heidolph 旋转蒸发仪 (德国 Heidolph 公司), LC-20A 型分析型高效液相 (日本 Shimadzu 公司), DLSB-10/30 低温冷却循环泵 (郑州长城科工贸有限公司), ZF-6 三用紫外线分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司), MOS-450 型圆二色光谱仪 (法国 BioLogic 公司), 酶标仪 (SpectraMax 190, 美国 Molecular Devices 公司), 共聚焦显微镜 (日本 Olympus 公司)。

D101 大孔吸附树脂 (净品级, 南开大学化工厂), 柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶、薄层色谱硅胶板 (青岛海洋化工有限公司), ODS 柱色谱填料 (ODS-A 50  $\mu$ m, 日本 YMC 公司), HPLC 用制备柱 COSMOSIL 5C<sub>18</sub>-MS-II (250 mm  $\times$  10 mm, 5  $\mu$ m), 甲醇 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司), 其他试剂 (分析纯, 市售)。MH-S 细胞购自上海中乔新舟生物科技有限公司。MTT、一氧化氮检测试剂盒、脂多糖及鬼笔环肽均购自北京索莱宝科技有限公司。 $\gamma$  干扰素 (interferon gamma, IFN- $\gamma$ ) 购自美国 PeProtech 公司。肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒购自碧云天生物技术有限公司。

槟榔青树皮药材于 2021 年 9 月在中国云南省西双版纳州傣医医院购入, 经哈尔滨医科大学药学院王金辉教授鉴定其为漆树科槟榔青属植物槟榔青 *S. pinnata* (L. f.) Kurz. 的干燥树皮。凭证样本 (20210901FR) 存放于哈尔滨医科大学药学院。

## 2 提取与分离

将干燥的槟榔青树皮 5.5 kg 粉碎, 用 75%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 3 h, 减压浓缩得总浸膏 1 093.6 g。该浸膏经 D101 大孔吸附树脂柱色谱, 依次用水及 30%、90%乙醇梯度洗脱, 减压浓缩后得到各部分提取物: E30% (295.9 g)、E90% (98.9 g)。将 E30%洗脱物用水分散后, 以水饱和正丁醇萃取, 回收溶剂得正丁醇萃取物 (95.7 g)。该萃取物经正相硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (100:1 $\rightarrow$ 1:1)

梯度洗脱, 合并相同流分得到 4 个组分 (Z1~Z4)。各组分再经反相 ODS 柱色谱 (甲醇-水梯度洗脱)、Sephadex LH-20 柱色谱及半制备 HPLC 等步骤反复分离纯化: 从 Z1 (6.5 g) 中得到化合物 **1** (3.5 mg); 从 Z3 (4.5 g) 中得到化合物 **5** (5.2 mg)、**6** (3.3 mg) 和 **9** (1.8 mg); 从 Z4 (6.0 g) 中得到化合物 **2** (7.5 mg)、**3** (7.8 mg) 和 **8** (10.2 mg)。将 E90%洗脱物 (共 98.9 g), 经正相硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 100:1→1:1) 梯度洗脱, 得到 14 个流分 (A~N)。其中, 流分 B (4.2 g) 经反相柱色谱、凝胶柱色谱及制备型 HPLC 得到化合物 **4** (14.4 mg) 和 **7** (1.5 mg); 流分 C (1.8 g) 经反相柱色谱及 HPLC 得到化合物 **10** (1.9 mg)。

### 3 抗炎活性评价

#### 3.1 细胞活力测定

采用 MTT 法检测化合物 **1** 对 MH-S 细胞增殖的影响。将 MH-S 细胞接种于 96 孔板中 (细胞  $1 \times 10^4$  个/孔, 200  $\mu$ L 培养基), 培养过夜。随后加入不同浓度 (5、10、20、40、80  $\mu$ mol/L) 的化合物 **1** 预处理, 在 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中孵育 24 h。最后, 每孔避光加入 150  $\mu$ L 用无血清培养基配制的 MTT 试剂 (0.04 mg/mL), 孵育 4 h 后弃去上清液。每孔加入 150  $\mu$ L DMSO, 使用酶标仪在 570 nm 波长处测定吸光度。

#### 3.2 一氧化氮 (NO) 生成测定

通过检测亚硝酸盐含量分析 NO 的生成量。将 MH-S 细胞接种于 96 孔板中 (每孔  $1 \times 10^4$  个细胞, 200  $\mu$ L 培养基), 培养 24 h。然后用不同浓度 (10、20、40  $\mu$ mol/L) 化合物 **1** 预处理细胞 2 h, 再加入或不加入 LPS (2  $\mu$ g/mL) 和 IFN- $\gamma$  (40 ng/mL) 刺激 24 h。收集上清液, 按照试剂盒说明书进行操作和测定。

#### 3.3 荧光染色实验

将 MH-S 细胞接种于共聚焦培养皿中, 置于培养箱中培养至细胞密度达 50%。饥饿处理 12 h 以使细胞周期同步化。在细胞形态变化实验中, 先用化合物 **1** (20  $\mu$ mol/L) 预孵育细胞 2 h, 然后加入 LPS (1  $\mu$ g/mL) 和 IFN- $\gamma$  (20 ng/mL) 刺激 6 h。随后, 细胞用 4% 多聚甲醛固定 10 min, 再用 0.4% Triton X-100 透化 4 min, 避光加入 TRITC 标记的鬼笔环肽染色 30 min。洗涤 3 次后, 用 DAPI 复染 30 s, 最后在共聚焦显微镜下观察。

#### 3.4 ELISA 测定

采用 ELISA 试剂盒检测 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的分泌

水平。将 MH-S 细胞接种于 96 孔板中, 培养至细胞密度达 70%。加入不同浓度 (10、20、40  $\mu$ mol/L) 的化合物 **1**, 在培养箱中孵育 2 h。随后用 LPS (1  $\mu$ g/mL) 和 IFN- $\gamma$  (20 ng/mL) 刺激细胞 24 h。收集上清液, 按照试剂盒说明书进行检测。

### 3.5 数据分析

采用 GraphPad Prism 软件进行统计分析。所有数值均表示为至少 3 次独立实验的  $\bar{x} \pm s$ 。各组数据采用 *t* 检验或非配对 *t* 检验进行统计学分析, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 4 结果

### 4.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (甲醇)。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -18.8 (*c* 0.35, CH<sub>3</sub>OH)。根据 HR-ESI-MS (*m/z* 417.2479 [M+H]<sup>+</sup>) 确定其分子式为 C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>O<sub>8</sub> (calcd. for C<sub>21</sub>H<sub>37</sub>O<sub>8</sub><sup>+</sup>, 417.2488)。在化合物 **1** 的 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 谱中,  $\delta$  0.99 (3H, s, H-11), 0.91 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-13), 0.93 (3H, s, H-12), 0.96 (3H, t, *J* = 7.3 Hz, H-21) 为 4 个甲基质子信号;  $\delta$  5.73 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7), 5.91 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8) 为 1 组反式双键质子信号;  $\delta$  4.22 (1H, m, H-9), 3.94 (1H, m, H-15), 4.27 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-16) 为亚甲基质子信号。<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 谱给出 21 个碳信号。其中,  $\delta$  215.0 (C-3), 175.0 (C-17) 为 2 个羰基碳信号;  $\delta$  135.0 (C-8), 132.3 (C-7) 为 sp<sup>2</sup> 杂化碳信号;  $\delta$  25.2 (C-11), 25.1 (C-12), 16.5 (C-13), 14.2 (C-21) 为 4 个甲基碳信号,  $\delta$  78.1 (C-6), 74.1 (C-9), 74.2 (C-15), 73.8 (C-16), 67.2 (C-10), 66.0 (C-18), 63.6 (C-14) 是连氧碳信号。

结合 HSQC 谱, 将化合物 **1** 的碳氢数据进行归属 (表 1)。在 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱中, H-4 ( $\delta$ <sub>H</sub> 2.12) 与 H-5 ( $\delta$ <sub>H</sub> 2.27) 的相关将 C-4/C-5 连接; H-8 ( $\delta$ <sub>H</sub> 5.91) 与 H-7 ( $\delta$ <sub>H</sub> 5.73)、H-9 ( $\delta$ <sub>H</sub> 4.22) 的相关, 以及 H-9 ( $\delta$ <sub>H</sub> 4.22) 与 H-10 ( $\delta$ <sub>H</sub> 3.52) 的相关连接 C-7/C-8/C-9/C-10。在 HMBC 谱中, H-7 ( $\delta$ <sub>H</sub> 5.73) 与 C-6 ( $\delta$ <sub>C</sub> 78.1) 和 C-9 ( $\delta$ <sub>C</sub> 74.1) 的远程相关, 以及 H-8 ( $\delta$ <sub>H</sub> 5.91) 与 C-6 ( $\delta$ <sub>C</sub> 78.1)、C-5 ( $\delta$ <sub>C</sub> 38.1) 和 C-10 ( $\delta$ <sub>C</sub> 67.2) 的远程相关确定了双键的位置。通过 H-13 ( $\delta$ <sub>H</sub> 0.91) 与 C-5 ( $\delta$ <sub>C</sub> 38.1)、C-4 ( $\delta$ <sub>C</sub> 46.3) 的远程相关, H-11 ( $\delta$ <sub>H</sub> 0.99) 与 C-2 ( $\delta$ <sub>C</sub> 52.3)、C-1 ( $\delta$ <sub>C</sub> 44.0) 的远程相关确定甲基的连接位置。基于一维和二维核磁共振谱, 与文献比对<sup>[9]</sup>, 推断化合物 **1** 为 1 个单萜类化合物。此外, 在 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱中 H-15 ( $\delta$ <sub>C</sub> 3.94) 与

表 1 化合物 1 的核磁共振谱数据

Table 1 <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR data for compound 1

碳位	$\delta_H$	$\delta_C$	碳位	$\delta_H$	$\delta_C$
1		44.0	12	0.93 (3H, s)	25.1
2	2.87 (1H, d, $J = 13.5$ Hz), 1.82 (1H, dd, $J = 13.5, 2.3$ Hz)	52.3	13	0.91 (3H, d, $J = 6.6$ Hz)	16.5
3		215.0	14	3.58 (1H, m), 3.64 (1H, m)	63.6
4	2.45 (1H, dd, $J = 14.0, 12.8$ Hz), 2.12(1H, m)	46.3	15	3.94 (1H, m)	74.2
5	2.27 (1H, m)	38.1	16	4.27 (1H, d, $J = 2.3$ Hz)	73.8
6		78.1	17		174.5
7	5.73 (1H, d, $J = 15.9$ Hz)	132.3	18	4.19 (2H, t, $J = 6.6$ Hz)	66.0
8	5.91 (1H, d, $J = 15.9$ Hz)	135.0	19	1.67 (2H, m)	31.8
9	4.22 (1H, m)	74.1	20	1.44 (2H, m)	20.1
10	3.52 (1H, m), 3.47 (1H, m)	67.2	21	0.96 (3H, t, $J = 7.3$ Hz)	14.2
11	0.99 (3H, s)	25.2			

H-14 ( $\delta_H$  3.64/3.58)、H-16 ( $\delta_H$  4.27) 的相关, 以及 HMBC 谱中 H-14 ( $\delta_H$  3.64/3.58) 与 C-10 ( $\delta_H$  67.2) 的远程相关确定 C-15/C-16/C-17 与六元环片段的连接位置。在 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱中, H-20 ( $\delta_H$  1.44) 与 H-21 ( $\delta_H$  0.96)、H-19 ( $\delta_H$  1.67) 的相关, 以及 H-19 ( $\delta_H$  1.67) 与 H-18 ( $\delta_H$  4.19)、H-20 ( $\delta_H$  1.44) 的相关, 结合 HMBC 谱中 C-17 ( $\delta_C$  174.5) 与 H-18 ( $\delta_H$  4.19)、H-16 ( $\delta_H$  4.27) 的远程相关连接该部分结构 (图 1)。

此外, 在 NOESY 谱中, H-7 ( $\delta_H$  5.73) 与 H-12 ( $\delta_H$  0.93) 和 H-5 ( $\delta_H$  2.27) 的相关信号证实了 C-5/C-7/C-12 的  $\alpha$  构型。由于 C-6 位羟基的 1,3-双竖键相互作用, 2 位和 4 位的直立键质子向高

场位移<sup>[9]</sup>, 因此, 6 位羟基为  $\alpha$  构型 (图 1)。考虑到支链的构象柔性, NOESY 数据无法明确其相对构型, 使用 GFN2NMR<sup>[10]</sup>对该化合物可能的 8 种相对构型进行了 <sup>13</sup>C-NMR 计算, DP4 概率分析表明, 构型 A ( $5R^*,6S^*,9R^*,15S^*,16S^*$ ) 具有 99.85% 的概率。综上, 确定了其相对构型。再利用 TDDFT [B3LYP/6-31G(d)]方法对 2 种绝对构型进行 ECD 计算, 将计算值和实测值进行拟合。结果表明, 实测 CD 与计算 ECD ( $5R,6S,9R,15S,16S$ ) 构型的图谱 (图 2) 一致, 因此化合物 1 的绝对构型为  $5R,6S,9R,15S,16S$ 。经 Scifinder 数据库检索未见报道, 命名为檳榔青素 A (spondias A)。

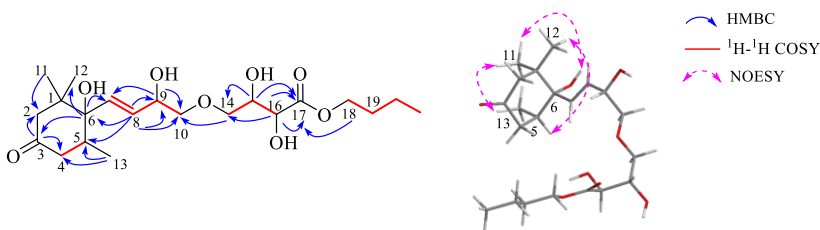


图 1 化合物 1 的 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY、HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 1 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HMBC, and NOESY correlations for compound 1

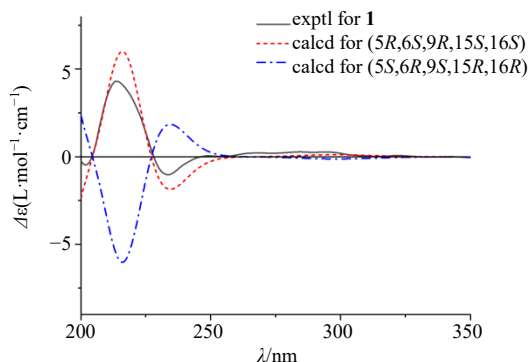


图 2 化合物 1 的实验和计算 ECD 图谱

Fig. 2 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

化合物 2: 无色针状结晶 (DMSO)。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -7.1 ( $c$  0.55, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 5.79 (1H, dd,  $J = 15.8, 6.6$  Hz, H-8), 5.61 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H-7), 4.26 (1H, m, H-3), 4.18 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'), 3.53 (3H, m, H-2'~4'), 3.01 (1H, m, H-5'), 3.11 (1H, m, H-6a'), 3.06 (1H, m, H-6b'), 2.73 (1H, d,  $J = 13.3$  Hz, H-2a), 2.19 (1H, m, H-4b), 2.31 (1H, t,  $J = 13.4$  Hz, H-4a), 1.70 (1H, d,  $J = 13.3$  Hz, H-2b), 1.21 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-10), 0.88 (3H, s, H-11), 0.84 (3H, s, H-12), 0.80 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-13); <sup>13</sup>C-NMR (75MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 210.5 (C-3), 150.1 (C-9), 133.2

(C-7), 132.1 (C-8), 101.0 (C-1'), 87.8 (C-5), 83.3 (C-6), 76.9 (C-3'), 76.8 (C-6), 76.0 (C-5'), 75.0 (C-8), 73.8 (C-2'), 70.0 (C-4'), 61.0 (C-6'), 46.7 (C-1), 43.0 (C-2), 42.9 (C-4), 24.6 (C-12), 24.3 (C-11), 21.1 (C-10), 16.0 (C-13)。上述数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 鉴定该化合物为 ampelopsinonside。

化合物 3: 白色粉末 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{25} -5.9$  ( $c$  0.42, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.97 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-8), 6.51 (1H, d,  $J = 16.0$  Hz, H-7), 5.78 (1H, s, H-10), 4.37 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-1'), 4.26 (1H, m, H-3), 3.82 (1H, m, H-2'), 3.88 (2H, m, H-11), 3.68 (3H, m, H-3'~5'), 3.15 (2H, m, H-6'), 2.16 (1H, dd,  $J = 13.7, 6.3$  Hz, H-2 $\beta$ ), 2.08 (3H, s, H-14), 1.99 (1H, dd,  $J = 13.7, 6.9$  Hz, H-4 $\beta$ ), 1.80 (2H, m, H-2 $\alpha$ , 4 $\alpha$ ), 1.18 (3H, s, H-13), 0.95 (3H, s, H-12); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 169.6 (C-15), 151.0 (C-9), 134.8 (C-7), 132.1 (C-8), 120.2 (C-10), 87.8 (C-5), 83.3 (C-6), 77.3 (C-11), 74.1 (C-3), 46.7 (C-1), 42.9 (C-4), 43.0 (C-2), 20.0 (C-13), 16.7 (C-12), 21.3 (C-14), 103.2 (C-1'), 78.2 (C-3'), 72.0 (C-4'), 78.1 (C-5'), 75.3 (C-2'), 63.0 (C-6')。上述数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 鉴定该化合物为 (2*E*,4*E*,1'*R*,3'*S*,5'*R*,8'*S*)-dihydrophaseic acid 3'-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside。

化合物 4: 白色粉末 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{25} -17.1$  ( $c$  1.44, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.73 (4H, dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, H-2, 3, 5, 6), 7.45 (3H, dt,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, H-4', 4'', 4'''), 7.39 (12H, overlapped, H-2', 3', 5', 6', 2'', 3'', 5'', 6'', 2''', 3''', 5''', 6'''), 7.32 (1H, m, H-4), 6.71 (2H, dd,  $J = 6.0, 7.9$  Hz, NH), 4.96 (1H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-8'''), 4.63 (1H, m, H-8''), 4.59 (1H, dd,  $J = 11.4, 3.2$  Hz, H-9'''a), 4.08 (1H, dd,  $J = 11.4, 4.0$  Hz, H-9'''b), 3.30 (2H, m, H-7'''), 3.10 (1H, dd,  $J = 11.4, 3.2$  Hz, H-7''a), 2.87 (1H, dd,  $J = 11.4, 5.0$  Hz, H-7''b); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 172.1 (C-13), 167.6 (C-7), 167.4 (C-7'), 133.5 (C-1), 134.2 (C-1'), 127.5 (C-2, 6), 127.2 (C-C, 6'), 128.8 (C-3, 5), 127.3 (C-3', 5'), 132.1 (C-4), 137.5 (C-4'), 137.3 (C-1''), 136.0 (C-1'''), 129.5 (C-2'', 6''), 129.3 (C-2''', 6'''), 128.6 (C-3'', 5''), 128.8 (C-3''', 5'''), 127.0 (C-4'', 4'''), 65.6 (C-9'''), 54.7 (C-8'''), 50.5 (C-8''), 37.7 (C-7'''), 37.4 (C-7'')。上述数据与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 鉴定该化合物为 *N*-benzoyl-*D*-phenylalanine (2*R*)-2-(benzoylamino)-3-phenylpropyl ester。

化合物 5: 白色粉末 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{25} -12.3$  ( $c$  0.33, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  6.73 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 6.72 (1H, s, H-6), 6.66 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 6.49 (1H, dd,  $J = 8.0, 2.0$  Hz, H-6'), 6.38 (1H, s, H-3), 4.59 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1''), 3.83 (2H, m, H-9), 3.80 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.77 (2H, m, H-2'', 3''), 3.76 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.72 (1H, d,  $J = 10.3$  Hz, H-7'), 3.66 (2H, m, H-6''), 3.36 (2H, m, H-4'', 5''), 3.33 (2H, dd,  $J = 10.0, 1.3$  Hz, H-9'), 2.80 (2H, d,  $J = 7.6$ , H-7), 1.99 (1H, m, H-8), 1.77 (1H, m, H-8'); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 149.2 (C-3'), 148.7 (C-4'), 146.3 (C-4), 145.9 (C-5), 138.3 (C-1'), 134.6 (C-2), 132.2 (C-1), 123.4 (C-6'), 118.6 (C-3), 116.2 (C-5'), 113.9 (C-2'), 113.3 (C-6), 102.4 (C-1''), 77.9 (C-3''), 77.7 (C-5''), 74.7 (C-2''), 70.4 (C-4''), 65.9 (C-9), 62.1 (C-9'), 61.4 (C-6''), 56.9 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.5 (4'-OCH<sub>3</sub>), 33.7 (C-7), 48.3 (C-8'), 47.7 (C-7'), 39.9 (C-8)。上述数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 鉴定该化合物为异落叶松树脂醇-4-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 6: 白色粉末 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{25} -5.6$  ( $c$  0.58, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.68 (1H, s, H-6), 6.36 (1H, s, H-2', 6'), 4.89 (1H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-1''), 4.33 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-7'), 3.80 (3H, s, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.67 (6H, s, 3', 5'-OCH<sub>3</sub>), 3.62 (1H, dd,  $J = 12.5, 2.5$  Hz, H-6''a), 3.57 (1H, dd,  $J = 12.0, 5.0$  Hz, H-6''b), 3.47 (2H, m, H-9), 3.42 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.38 (4H, m, H-2''~5''), 3.38 (2H, m, H-9'), 2.73 (1H, dd,  $J = 13.0, 5.0$  Hz, H-7a), 2.63 (1H, dd,  $J = 13.0, 5.0$  Hz, H-7b), 1.96 (1H, m, H-8'), 1.64 (1H, m, H-8); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 153.3 (C-3, 5), 149.3 (C-3', 5'), 139.0 (C-1'), 138.8 (C-1, 4), 136.5 (C-4'), 126.9 (C-2), 109.5 (C-6), 107.0 (C-2', 6'), 105.0 (C-1''), 79.0 (C-3''), 78.4 (C-5''), 75.9 (C-2''), 71.4 (C-4''), 66.8 (C-6''), 64.3 (C-9'), 62.6 (C-9), 61.6 (3-OCH<sub>3</sub>), 56.9 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.8 (5, 5'-OCH<sub>3</sub>), 48.8 (C-8'), 42.3 (C-7'), 40.8 (C-8), 33.9 (C-7)。上述数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 鉴定该化合物为 (+)-lyoni-resin-4-yl- $\beta$ -*D*-glucopyranoside。

化合物 7: 黄色粉末 (甲醇)。 $[\alpha]_D^{25} -19.7$  ( $c$  0.15, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.68 (4H, m, H-2', 3', 5', 6'), 7.22 (1H, m, H-4'), 4.04 (1H, m, H-2), 2.44 (2H, m, H-3), 1.23 (3H, s, CH<sub>3</sub>-8), 1.22 (3H, s, CH<sub>3</sub>-6)。上述数据与文献报道一致<sup>[15]</sup>, 鉴定该化合

物为 5,7-二羟基-6,8-二甲基二氢黄酮。

化合物 **8**: 黄色油状(甲醇)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.93 (1H, dd,  $J = 7.8, 2.0$  Hz, H-5), 7.48 (1H, dd,  $J = 7.8, 2.0$  Hz, H-8), 7.28 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.8$  Hz, H-7), 7.11 (1H, dd,  $J = 7.8, 1.8$  Hz, H-6), 6.98 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.65 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', 5'), 4.77 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 3.91 (1H, m, H-2''), 3.72 (1H, m, H-3''), 3.43 (2H, m, H-4'', 5''), 3.14 (2H, m, H-6''); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 177.6 (C-4), 157.6 (C-2), 155.9 (C-9), 134.6 (C-3, 7), 123.7 (C-5, 1', 3', 5'), 123.6 (C-6, 10), 116.5 (C-8), 116.4 (C-2', 4', 6'), 103.2 (C-1''), 74.7 (C-2''), 78.6 (C-3''), 71.4 (C-4''), 77.5 (C-5''), 62.8 (C-6'')。上述数据与文献报道一致<sup>[16]</sup>, 鉴定该化合物为 4'-羟基-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖黄酮苷。

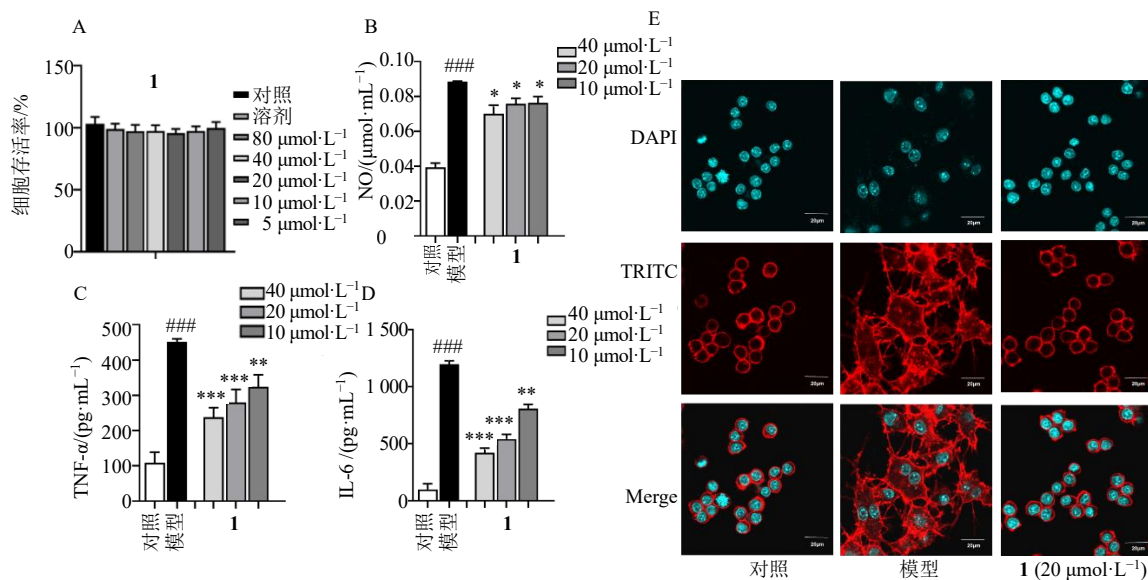
化合物 **9**: 白色针晶(DMSO)。 $[\alpha]_D^{25} -8.6$  ( $c$  0.87, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 6.93 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.55 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', 5'), 6.01 (1H, brs, H-8), 5.91 (1H, brs, H-6), 2.91 (2H, m, H-3), 4.98 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 3.63 (1H, m, H-6a''), 3.49 (1H, m, H-6b''), 3.21 (4H, m, H-2''~5''); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 193.2 (C-4), 172.4 (C-5), 168.7 (C-7), 157.0 (C-4'), 156.3 (C-9), 131.6 (C-

2', 6'), 124.6 (C-1'), 115.2 (C-3', 5'), 106.0 (C-2), 102.3 (C-10), 99.9 (C-1''), 96.4 (C-8), 92.2 (C-6), 77.6 (C-3''), 77.3 (C-5''), 73.4 (C-2''), 69.8 (C-4''), 60.7 (C-6''), 40.5 (C-3)。上述数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 鉴定该化合物为 (2*S*)-2-hydroxynaringenin 4'-O- $\beta$ -D-glucoside。

化合物 **10**: 无色针晶(甲醇)。 $[\alpha]_D^{25} -20.3$  ( $c$  0.19, CH<sub>3</sub>OH)。<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.71 (2H, d,  $J = 7.4$  Hz, H-2', 6'), 7.53 (1H, m, H-4'), 7.43 (2H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-3', 5'), 7.28 (4H, m, H-2'', 3'', 5'', 6''), 7.20 (1H, m, H-4''), 4.35 (1H, m, H-2), 3.65 (2H, m, H-1), 3.30 (1H, dd,  $J = 13.7, 6.2$  Hz, H-3), 2.87 (1H, dd,  $J = 13.7, 8.5$  Hz, H-3); <sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 170.5 (C-7'), 140.1 (C-1'), 129.5 (C-2', 6'), 128.4 (C-3', 5', 3'', 5''), 127.4 (C-4'), 136.1 (C-1''), 129.5 (C-2'', 6''), 132.6 (C-4''), 64.4 (C-1), 55.5 (C-2), 38.1 (C-3)。上述数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 鉴定该化合物为 (*S*)-(-)-*N*-苯甲酰苯丙氨醇。

4.2 化合物 **1** 的抗炎活性评价

采用 MTT 法检测化合物 **1** (5、10、20、40、80  $\mu$ mol/L) 对 MH-S 细胞的细胞毒性, 结果显示其在上述浓度范围内无显著细胞毒性(图 3-A)。进而考察化合物对 NO 表达量的影响, 结果表明其可抑制 NO 释放(40  $\mu$ mol/L 时抑制率为 21.2%,  $P < 0.05$ )



A-MTT 法进行检测细胞毒性; B-NO 试剂盒测定上清液中 NO 含量; C、D-细胞上清液中检测 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达; E-化合物 **1** 对 MH-S 细胞形态的影响 ( $\times 60$ ); 与对照组比较: #### $P < 0.001$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$ 。

A-cytotoxicity was detected by MTT assay; B-NO content determined by NO assay kit; C, D-expression levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 in the cell supernatant; E-effect of compound **1** on the morphology of MH-S cells ( $\times 60$ ); #### $P < 0.001$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group.

图 3 化合物 **1** 对 MH-S 细胞抗炎活性评估 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 3 Evaluation of anti-inflammatory activity of compound **1** in MH-S cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

(图 3-B)。在 ELISA 实验中, 化合物 1 能显著抑制炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的释放 (图 3-C、D), 表明化合物具有潜在的抗炎活性。为探究化合物 1 对 MH-S 细胞向 M1 表型转化的影响, 进一步通过鬼笔环肽染色观察细胞形态变化, 对照组细胞呈圆形、表面光滑, LPS/IFN- $\gamma$  刺激 6 h 后, 细胞伸出大量伪足, 表面粗糙并出现棘状突起; 而经与化合物 1 (20  $\mu\text{mol/L}$ ) 共孵育 2 h 后可显著改善上述形态改变 (图 3-E), 表明化合物 1 可抑制 MH-S 细胞向 M1 表型转化, 发挥抗炎作用。

## 5 讨论

从槟榔青树皮乙醇提取物中分离并鉴定了 10 个化合物, 包括 1 个新化合物 spondias A (1) 及 9 个已知化合物 (2~10)。其中, 化合物 2~4、7~10 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 5~6 为首次从该植物中分离得到。抗炎活性评价结果表明, 新化合物 1 在 10  $\mu\text{mol/L}$  浓度下能显著抑制 TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达, 并在 20  $\mu\text{mol/L}$  浓度下显著改善 LPS/IFN- $\gamma$  诱导的 MH-S 细胞形态变化, 提示其可通过抑制 MH-S 细胞向 M1 表型转化发挥抗炎作用。本研究丰富了槟榔青的化学成分库, 并为该植物中抗炎活性成分的发现与开发利用提供了科学依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 马洁, 管艳红, 张丽霞. 槟榔青的应用价值 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(10): 727.
- [2] Ghate N B, Hazra B, Sarkar R, et al. In vitro anticancer activity of *Spondias pinnata* bark on human lung and breast carcinoma [J]. *Cytotechnology*, 2014, 66(2): 209-218.
- [3] Chalise J P, Acharya K, Gurung N, et al. Antioxidant activity and polyphenol content in edible wild fruits from Nepal [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2010, 61(4): 425-432.
- [4] Rao B G, RaJu N J. Investigation of hepatoprotective activity of *Spondias pinnata* [J]. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 2010, 1(3): 193-198.
- [5] Li R, Yang J J, Song X Z, et al. Chemical composition and the cytotoxic, antimicrobial, and anti-inflammatory activities of the fruit peel essential oil from *Spondias*

*pinnata* (Anacardiaceae) in Xishuangbanna, southwest China [J]. *Molecules*, 2020, 25(2): 343.

- [6] Pereira C, de Oliveira L L, Gonçalves R, et al. Phytochemical and phylogenetic analysis of *Spondias* (Anacardiaceae) [J]. *Quimica N*, 2015, 38(6): 813-816.
- [7] Tandon S, Rastogi R. Studies on the chemical constituents of *Spondias Pinnata* [J]. *Planta Med*, 1976, 29(2): 190-192.
- [8] Elufioye T, Obuotor E, Agbedahunsi J, et al. Anticholinesterase constituents from the leaves of *Spondias mombin* L. (Anacardiaceae) [J]. *Biol Targets Ther*, 2017, 11: 107-114.
- [9] De Marino S, Borbone N, Zollo F, et al. Megastigmane and phenolic components from *Laurus nobilis* L. leaves and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(25): 7525-7531.
- [10] Ai W J, Li J, Cao D S, et al. A very deep graph convolutional network for 13 NMR chemical shift calculations with density functional theory level performance for structure assignment [J]. *J Nat Prod*, 2024, 87(4): 743-752.
- [11] 蓝鸣生, 马健雄, 谭昌恒, 等. 红鱼眼化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(9): 1712-1714.
- [12] Catalán C A N, de Heluani C S, Kotowicz C, et al. A linear sesterterpene, two squalene derivatives and two peptide derivatives from *Croton hieronymi* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 64(2): 625-629.
- [13] 石舒雅. 宽叶打碗花化学成分及其降糖活性初步研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2019.
- [14] Jin H G, Kim A R, Ko H J, et al. A new megastigmane glycoside from *Akebia quinata* [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2015, 38(5): 591-597.
- [15] 吴泳樟, 张玉波, 陈能花, 等. 洋蒲桃枝叶化学成分研究 [J]. 中药材, 2015, 38(4): 754-757.
- [16] Lee S G, Karadeniz F, Seo Y, et al. Anti-melanogenic effects of flavonoid glycosides from *Limonium tetragonum* (Thunb.) Bullock via inhibition of tyrosinase and tyrosinase-related proteins [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1480.
- [17] 曾鹏, 张勇, 潘晨, 等. 巴东过路黄酚类化学成分研究 [J]. 药学学报, 2013, 48(3): 377-382.
- [18] 南彩云, 朱继孝, 蒋伟, 等. 滇结香花的化学成分研究 [J]. 中药材, 2017, 40(7): 1618-1621.

[责任编辑 王文倩]