

黑桑中 Diels-Alder 型加合物的分离鉴定及其 PPAR γ 结合活性研究

于振铭^{1,2}, 陈天鸿^{1,2}, 毛旭东^{1,2}, 黄春跃^{1,2}, 胡 晓^{1,2*}

1. 中国医药工业研究总院, 上海 201203

2. 上海医药工业研究院有限公司, 先导物成药性研究全国重点实验室, 上海 201203

摘要: **目的** 研究黑桑 *Morus nigra* 茎枝中新颖的 Diels-Alder 型加合物, 并初步评价其过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 结合活性。**方法** 采用硅胶、AB-8 大孔吸附树脂、聚酰胺、Sephadex LH-20 凝胶及 ODS 反相柱色谱等多种方法进行系统分离纯化; 通过高分辨质谱 (HR-ESI-MS)、核磁共振波谱 (¹H-NMR、¹³C-NMR) 等现代波谱技术对所得单体化合物进行结构鉴定, 通过 PPAR γ 配体结合实验对部分化合物进行体外活性考察。

结果 从黑桑茎枝乙醇提取物中分离得到 6 个 Diels-Alder 型加合物, 分别鉴定为 (5aR,10aR,14S)-2-((1S,2R,3S)-2-(2,4-二羟基苯甲酰)-2',4'-二羟基-5-甲基-1,2,3,6-四氢-[1,1'-联苯基]-3-基)-1,3,8,14-四羟基-13,13-二甲基-11H-10a,5a-(环氧丙基桥)苯并呋喃并[3,2-b]色烯-11-酮 (1)、桑根酮 O (2)、桑根酮 C (3)、桑呋喃 F (4)、cathayanin B (5)、桑呋喃 G (6)。化合物 1 在 10 μ mol/L 浓度下对 PPAR γ 显示出微弱的配体结合活性; 化合物 3 在 10 μ mol/L 浓度下对 PPAR γ 具有一定的配体结合活性, 但明显弱于其生源前体 sanggenol F。**结论** 化合物 1 为新的 Diels-Alder 加合物, 命名为黑桑根酮 Q, 该化合物由 1 分子桑根酮型二氢黄酮与 1 分子查耳酮经[4+2]环加成生成, C-2 位异戊烯基侧链氧化后与 C-3 位通过氧桥形成六元环, 最终构建出结构新颖的[4,4,3]桥环体系。化合物 3 具有一定的 PPAR γ 配体结合活性。

关键词: 桑科; 黑桑; Diels-Alder 型加合物; 黑桑根酮 Q; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)18-7233-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.18.013

Isolation and identification of Diels-Alder adducts from *Morus nigra* and their PPAR γ binding activity

YU Zhenming^{1,2}, CHEN Tianhong^{1,2}, MAO Xudong^{1,2}, HUANG Chunyue^{1,2}, HU Xiao^{1,2}

1. China State Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203, China

2. State Key Laboratory of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203, China

Abstract: Objective Novel Diels-Alder-type adducts from the stems and branches of *Morus nigra* were investigated, and their peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) binding activity was preliminarily evaluated. **Methods** Systematic isolation and purification were carried out by multiple chromatographic methods including silica gel, AB-8 macroporous resin, polyamide, Sephadex LH-20 gel and ODS reversed-phase column chromatography. Structures of the isolated compounds were identified by modern spectroscopic techniques including high-resolution electrospray ionization mass spectrometry (HR-ESI-MS) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR, ¹³C-NMR). The *in vitro* activities of some compounds were evaluated by PPAR γ ligand-binding assay. **Results** Six Diels-Alder adducts were isolated from the ethanol extract of *M. nigra* twigs and identified as (5aR,10aR,14S)-2-((1S,2R,3S)-2-(2,4-dihydroxybenzoyl)-2',4'-dihydroxy-5-methyl-1,2,3,6-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-3-yl)-1,3,8,14-tetrahydroxy-13,13-dimethyl-11H-10a,5a-(epoxypropano)benzofuro[3,2-b]chromen-11-one (1), sanggenon O (2), sanggenon C (3), mulberrofuran F (4), cathayanin B (5), and mulberrofuran G (6). Compound 1 exhibited weak PPAR γ ligand-binding activity at 10 μ mol/L. Compound 3 exhibited moderate ligand-binding activity toward PPAR γ at 10 μ mol/L, which was obviously weaker than that of its biosynthetic precursor sanggenol F (SGF). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named nigragenon Q, it is formed by

收稿日期: 2026-07-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32270421)

作者简介: 于振铭, 硕士研究生, 从事天然活性成分分离鉴定与结构衍生化。E-mail: 317259965@qq.com

*通信作者: 胡 晓, 研究员, 博士生导师, 从事天然先导化合物发现与中药药效物质基础研究。E-mail: xjtuyxhx@126.com

an intermolecular [4+2] cycloaddition between a sanggenone-type dihydroflavone and a chalcone. Oxidation of the C-2 isoprenyl side chain enables its connection to C-3 via an oxygen bridge, furnishing a six-membered ring and constructing a unique [4,4,3] bridged ring system. Compound **3** exhibited moderate PPAR γ ligand-binding activity.

Key words: Moraceae; *Morus nigra* L.; Diels-Alder-type adducts; nigragenon Q; peroxisome proliferator-activated receptor γ

桑属 *Morus* L. 隶属桑科 (Moraceae), 为落叶灌木或乔木, 多分布于温带及暖温带地区, 在东亚、西亚及美洲等地均有分布。全球约有 16 个物种, 我国原产 11 种, 遍布全国各地, 其中白桑 *Morus alba* L.、鸡桑 *M. australis* L.、黑桑 *M. nigra* L. 等物种较为常见。该属植物兼具药用与食用价值, 桑椹、桑枝、桑白皮、桑叶等均被《中国药典》2025 年版收载。黑桑又称药桑^[1-2], 是新疆特有的桑树种质资源, 主要集中在喀什、阿克苏、吐鲁番等区域, 在维吾尔族民间传统医学中被用于清热燥湿、凉血解毒。现代研究表明, 黑桑富含黄酮类、多酚类等多种活性成分, 具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎及降糖等药理作用^[3], 显示出良好的药用开发潜力。

Diels-Alder 型加合物是桑属植物中一类特征性天然产物, 由多酚前体经 [4+2] 环加成反应生成, 具有独特的甲基环己烯结构^[4]。桑属来源的 Diels-Alder 加合物 (如 sanggenon 系列) 表现出抗人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)、抗菌及抗肿瘤等多种活性^[5]。黑桑中已被发现多种该类化合物, 是发掘新颖活性天然产物的重要资源。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ)^[6] 是调控糖脂代谢的关键核受体, 其激活可显著改善外周组织的胰岛素抵抗, 是 2 型糖尿病治疗的重要药物靶标。本课题组前期从黑桑中分离鉴定了多个结构新颖的桑根酮型二氢黄酮类化合物^[7-9], 并发现该类成分具有显著的胰岛素增敏活性, 是 PPAR γ 的潜在天然配体。

本课题在已有研究基础上, 进一步聚焦黑桑中 Diels-Alder 型加合物的分离和结构鉴定, 并考察了其中部分化合物的 PPAR γ 配体结合活性。黑桑乙醇提取物经大孔吸附树脂、正反相硅胶、凝胶等柱色谱分离, 共得到 6 个 Diels-Alder 型加合物, 分别鉴定为 (5aR,10aR,14S)-2-((1S,2R,3S)-2-(2,4-二羟基苯甲酰)-2',4'-二羟基-5-甲基-1,2,3,6-四氢-[1,1'-联苯基]-3-基)-1,3,8,14-四羟基-13,13-二甲基-11H-10a,5a-(环氧丙基桥)苯并呋喃并[3,2-b]色烯-11-酮 [(5aR,10aR,14S)-2-((1S,2R,3S)-2-(2,4-dihydroxy benzoyl)-

2',4'-dihydroxy-5-methyl-1,2,3,6-tetrahydro-[1,1'-biphenyl]-3-yl)-1,3,8,14-tetrahydroxy-13,13-dimethyl-11H-10a,5a-(epoxypropano) benzofuro [3,2-b]chromen-11-one, **1**)、桑根酮 O (sanggenon O, **2**)、桑根酮 C (sanggenon C, **3**)、桑呋喃 F (mulberrofuran F, **4**)、cathayanin B (**5**)、桑呋喃 G (mulberrofuran G, **6**), 结构见图 1。其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为黑桑根酮 Q (nigragenon Q)。PPAR γ 配体结合活性考察结果显示, 在 10 μ mol/L 浓度下, 化合物 **3** 具有一定的配体结合活性, 化合物 **1** 具有微弱的配体结合活性。

1 材料与仪器

1.1 仪器设备

Rudolph AUTOPOL VI 型旋光仪 (美国鲁道夫公司); JASCO J-810 型圆二色光谱仪 (日本 JASCO 公司); WatersXevoG2-XSQ-TOF 高分辨质谱仪 (美国 Waters 公司); 岛津 UV-2500PC 紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司); ThermoU3000 高效液相色谱系统 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]; 月旭 WelchPUD0050 型制备液相色谱仪 [月旭科技 (上海) 股份有限公司], 配套 Welch C₁₈ 分析柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 与制备柱 (250 mm $\times$ 21.2 mm, 5 μ m); Bruker AVance III 800/600 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司)。SHP-080 生物培养箱 (上海精宏仪器设备有限公司) 384 孔 HTS 微孔板 (德国 Greiner 公司); Nivo 微孔板读板仪 (美国 PerkinElmer 公司)。

1.2 试剂与材料

AB-8 型大孔吸附树脂 (上海摩速科学器材有限公司); 200~300 目正相硅胶 (青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (50~80 μ m, 瑞典 GE Healthcare Bio-ScienceAB); PolarScreenTM TR-FRET PPAR γ 竞争剂检测试剂盒 (PV6136, Invitrogen, 美国赛默飞公司); 2-氯-5-硝基-N-苯基苯甲酰胺 (GW9662, 批号 G125880, 质量分数 $\geq$ 98.0%, 上海阿拉丁生化科技股份); Sanggenol F (SGF, 质量分数 $\geq$ 95.0%, 实验室自制); DMSO (批号 30072418, 国药集团), PBS (pH 7.4, 批号 2902929, Gibco 公司)。

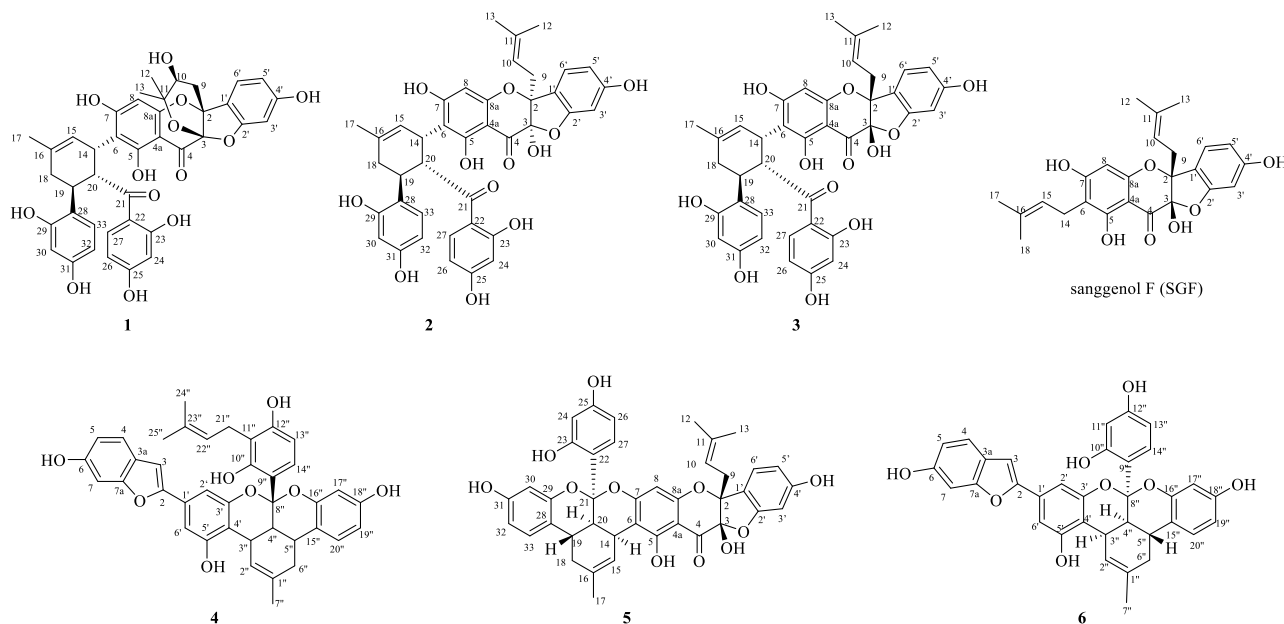


图 1 化合物 1~6 和 SGF 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—6 and SGF

实验所用黑桑茎枝于 2019 年 8 月采集于新疆维吾尔自治区和田县,经中国医药工业研究总院中药研究部吴彤研究员鉴定为桑科桑属植物黑桑 *M. nigra* L. 的茎枝。样品标本(HS190930001)保存于中国医药工业研究总院中药研究部标本室。

2 提取与分离

黑桑枝条经干燥,打粉,得粗粉 22 kg,用 90% 乙醇加热回流处理(共 2 次,每次 1 h, 10 : 1),合并提取液,浓缩得浸膏 1.7 kg。取 1.5 kg 浸膏,用水混悬,上大孔吸附树脂色谱柱(AB-8, 1.2 kg),依次用 2 倍柱体积的水,5 倍柱体积的 40%乙醇和 5 倍柱体积的 95%乙醇洗脱,减压浓缩干燥得到水洗脱部位(113.0 g)、40%乙醇洗脱部位(560.7 g)和 95%乙醇洗脱部位(378.0 g)3 个部位。其中 95%乙醇洗脱部位(250.0 g)经正相硅胶柱色谱分离(石油醚-醋酸乙酯 10 : 1→7 : 1→5 : 1→2 : 1→1 : 1),得到 6 个组分(Fr. 1~6)。

Fr. 6 (25.0 g) 进一步过 AB-8 大孔吸附树脂,分别用 50%、80%和 100%乙醇各 3 倍柱体积洗脱,减压浓缩干燥得到 50%乙醇洗脱部位(Fr. 6-1, 3.0 g)、80%乙醇洗脱部位(Fr. 6-2, 16.7 g)和 100%乙醇洗脱部位(Fr. 6-3, 5.0 g)3 个部位。Fr. 6-2 (16.0 g) 进一步经 ODS 色谱柱分离,分别用 45%、60%、75%、100%甲醇洗脱,得到组分 Fr. 6-2-A~6-2-E。其中 Fr. 6-2-C (5.3 g) 经 Sephadex LH-20 (甲醇)

柱色谱分离,得到 5 个组分(Fr. 6-2-C-1~6-2-C-5)。Fr. 6-2-C-1 (41.8 mg) 经制备 HPLC (乙腈-1%甲酸水, 60%~65%乙腈梯度洗脱,体积流量 15 mL/min) 纯化后得到化合物 4 (8.9 mg, t_R =18.36 min)。Fr. 6-2-C-3 (116.8 mg) 经制备液相(乙腈-1%甲酸水, 60%~70%乙腈梯度洗脱,体积流量 15 mL/min) 纯化后得到化合物 2 (14.9 mg, t_R =17.73 min) 和 3 (39.8 mg, t_R =18.68 min)。Fr. 6-2-C-4 (71.2 mg) 经制备 HPLC (乙腈-1%甲酸水, 60%~70%乙腈梯度洗脱,体积流量 15 mL/min) 纯化后得到化合物 5 (19.3 mg, t_R =18.31 min)。Fr. 6-3 (5.0 g) 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 柱色谱分离,得到 10 个组分(Fr. 6-3-1~6-3-10)。Fr. 6-3-4 (125.7 mg) 经制备 HPLC (乙腈-1%甲酸水, 50%~65%乙腈梯度洗脱,体积流量 15 mL/min) 纯化后得到化合物 1 (13.5 mg, t_R =14.25 min)。Fr. 6-3-7 (47.8 mg) 经制备 HPLC (乙腈-1%甲酸水, 58%乙腈等度洗脱,体积流量 15 mL/min) 纯化后得到化合物 6 (13.6 mg, t_R =14.36 min)。

3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色粉末; $[\alpha]_D^{20} + 118.0$ (c 0.1, MeOH); HR-ESI-MS m/z 723.206 3 $[M-H]^-$ (计算值 723.207 8, $C_{40}H_{35}O_{13}$), 得出化合物 1 的分子式为 $C_{40}H_{36}O_{13}$, 不饱和度为 23。

1H -NMR 谱(表 1) 显示 3 组芳环 ABX 体系: δ_H 6.46 (1H, d, J =2.4 Hz, H-30), 6.27 (1H, dd, J =8.4,

表 1 化合物 1 的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 数据 (600/150 MHz, acetone- d_6)Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR data of 1 (600/150 MHz, acetone- d_6)

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
2		87.5	20	4.53 (1H, t, $J = 5.8$ Hz)	48.0
3		102.1	21		208.5
4		188.3	22		113.7
4a		102.1	23		166.2
5		163.2 ^a	24	6.18 (1H, d, $J = 2.3$ Hz)	103.4
6		110.4	25		161.2
7		167.6	26	6.35 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz)	108.8
8	5.83 (1H, s)	97.8	27	8.30 (1H, d, $J = 9.0$ Hz)	134.7
8a		159.6	28		122.1
9	2.28~2.20 (1H, m), 2.71 (1H, dd, $J = 13.2, 4.2$ Hz)	35.0	29		156.4
10	3.40 (1H, dd, $J = 11.6, 4.2$ Hz)	69.7	30	6.46 (1H, d, $J = 2.4$ Hz)	103.6
11		78.4	31		157.7
12	1.09 (3H, s)	27.9	32	6.27 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz)	107.4
13	1.20 (3H, s)	20.2	33	6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)	128.9
14	4.12 (1H, brs)	32.6	1'		119.4
15	5.54 (1H, brs)	122.8	2'		161.1
16		134.7	3'	6.37 (1H, d, $J = 2.1$ Hz)	99.5
17	1.87 (3H, s)	23.8	4'		161.6
18	2.44 (1H, dd, $J = 17.8, 4.9$ Hz), 2.28~2.20 (1H, m)	32.6	5'	6.53 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz)	110.4
19	3.85 (1H, brd, $J = 5.8$ Hz)	35.0	6'	7.34 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)	125.1

^a 测试条件为 DMSO- d_6 , 200 MHz。^a measured in DMSO- d_6 , 200 MHz.

2.4 Hz, H-32), 6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-33)、 δ_{H} 6.18 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-24), 6.35 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, H-26), 8.29 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-27) 和 δ_{H} 6.37 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-3'), 6.53 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-5'), 7.34 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6'), 另有 1 个芳香质子单峰信号 δ_{H} 5.83 (1H, s, H-8), 据此推断分子中存在 4 个苯环 (A~D); 此外, 还可见 2 组亚甲基信号 δ_{H} 2.44 (1H, dd, $J = 13.2, 4.2$ Hz, H-9a), 2.20~2.28 (1H, m, H-9b) 和 δ_{H} 2.20~2.28 (1H, m, H-18a), 2.71 (1H, dd, $J = 17.8, 4.9$ Hz, H-18b); 5 个次甲基信号 δ_{H} 3.40 (1H, dd, $J = 11.6, 4.2$ Hz, H-10), 4.12 (1H, brs, H-14), 5.54 (1H, brs, H-15), 3.85 (1H, brd, $J = 5.8$ Hz, H-19), 4.53 (1H, t, $J = 5.9$ Hz, H-20); 以及 3 个甲基信号 δ_{H} 1.20 (3H, s, 12-CH₃), 1.09 (3H, s, 13-CH₃), 1.87 (3H, brs, 17-CH₃)。 ^{13}C -NMR 谱 (表 1) 中显示 40 个碳信号 (含重叠), 包括 2 个烯碳信号 δ_{C} 122.8 (C-15), 134.7 (C-16) 和 2 个羰基碳信号 δ_{C} 188.3 (C-4), 208.5 (C-21)。

^1H - ^1H COSY 谱 (图 2) 显示, H-15 与 H-14、H-14 与 H-20、H-20 与 H-19、H-19 与 H-18 分别相关。HMBC 谱 (图 2) 显示, H-18 与 C-16、C-19 相

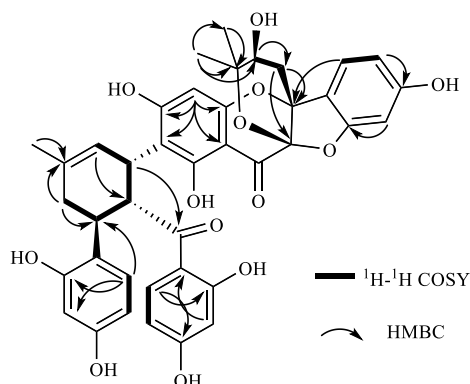


图 2 化合物 1 的关键 HMBC 和 ^1H - ^1H COSY 相关
Fig. 2 Key HMBC and ^1H - ^1H COSY correlations of compound 1

关; H-15 与 C-20 相关; H-17 与 C-16 相关, 由此确认 C-14~C-20 构成 1 个特征的甲基环己烯环, 表明该化合物为 Diels-Alder 型加合物; H-33 与 C-19、C-30、C-31 相关, 确定苯环 B 连接在甲基环己烯环的 19 位; H-20 与 C-6、C-21、C-28 的 HMBC 相关, 确定羰基碳连接在甲基环己烯环的 C-20 位, 而苯环 A 连接在 C-14 位; C-2 位异戊烯基侧链发生较大变化, H-9 与 H-10 的 ^1H - ^1H COSY 相关, 结

合 H-12 与 C-11、C-13 有 HMBC 相关, H-13 与 C-10、C-11、C-12 有 HMBC 相关, 且 C-10 (δ_c 69.7) 和 C-11 (δ_c 78.4) 为连氧碳, 提示 C-10 与 C-11 的双键被氧化, 结合分子整体不饱和度, 推测该异戊烯基双键被环氧化后被 C-3 位羟基进攻形成氧桥。当形成五元环时, C-10 的化学位移出现在 $\delta > 80$ 区域, C-11 的化学位移出现在 $\delta < 75$ 区域, 由此可以排除化合物 **1** 形成五元氧桥结构。当形成六元环时, C-11 的化学位移 (δ_c) 约为 76.0, 与化合物 **1** 的实验值 (δ_c 78.4) 基本吻合^[10-12]。

H-14 峰形为宽单峰 (brs), 提示 H-14 与 H-20 为顺式。NOESY 谱显示 H-33 与 H-20 相关, 提示 H-19 与 H-20 为反式, 由此确定甲基环己烯环相对构型为顺反式。ECD 图谱 (图 3) 显示, 化合物 **1** 在 208、291 nm 处呈正 Cotton 效应, 在 239、260 nm 处呈负 Cotton 效应, 确定 C-2 与 C-3 位的绝对构型分别为 2*R* 和 3*S*^[8]。C-10 和其他手性碳的相对构型利用 ¹³C-NMR 计算来确定。在 B3LYP/6-31+G(d,p) 水平下, 采用 GIAO 方法计算 2 种非对应异构体 2*R**, 3*R**, 10*S**, 14*S**, 19*S**, 20*R** 和 2*R**, 3*R**, 10*R**, 14*S**, 19*S**, 20*R** 的 ¹³C-NMR 化学位移, 结果显示计算值和实验值的决定系数 (R^2) 分别为 0.996 5 和 0.998 0, 表明相关性较好, 验证了该计算方法的可靠性。DP4⁺ 概率分析表明, 实验值与 2*R**, 3*R**, 10*R**, 14*S**, 19*S**, 20*R** 理论计算的匹配度为 100%。通过计算 ECD 与实验 ECD 谱图 (图 3) 比对确定绝对构型为 2*R*, 3*R*, 10*R*, 14*S*, 19*S*, 20*R*。

综上所述, 化合物 **1** 由 1 分子桑根酮型二氢黄酮与 1 分子查耳酮经分子间 [4+2] 环加成反应生成,

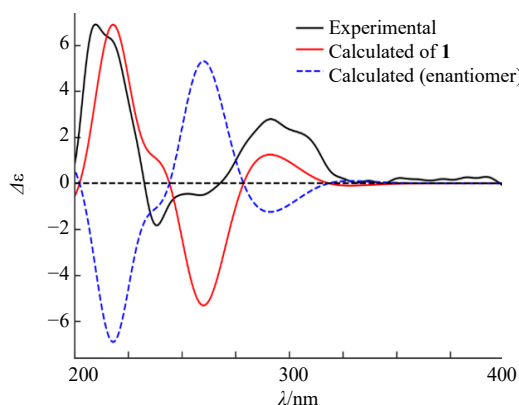


图 3 化合物 **1** 的实验 ECD 和计算 ECD 图谱

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

C-2 位异戊烯基侧链氧化后与 C-3 位通过氧桥形成六元环, 最终构建出结构新颖的 [4,4,3] 桥环体系。因此, 化合物 **1** 的结构确定为 (5*aR*, 10*aR*, 14*S*)-2-((1*S*, 2*R*, 3*S*)-2-(2,4-二羟基苯甲酰)-2',4'-二羟基-5-甲基-1,2,3,6-四氢-[1,1'-联苯基]-3-基)-1,3,8,14-四羟基-13,13-二甲基-11*H*-10*a*, 5*a*-(环氧丙基桥) 苯并呋喃并 [3,2-*b*] 色烯-11-酮。经文献检索, 认定化合物 **1** 为新化合物。基于其结构中含有的桑根酮母核, 并参照本课题组前期对同类化合物的命名体系^[7-9], 将其命名为黑桑根酮 **Q**。

化合物 **2**: 淡黄色粉末, ¹H-NMR (600 MHz, acetone-*d*₆) δ : 12.52 (1H, brs, 5-OH), 12.10 (1H, brs, 23-OH), 8.37 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-27), 7.33 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-33), 6.51 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.46 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-30), 6.37 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-3'), 6.37 (1H, dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, H-26), 6.27 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, H-32), 6.22 (1H, brs, H-24), 5.75 (1H, s, H-8), 5.55 (1H, brs, H-15), 5.07 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-10), 4.57 (1H, t, $J = 5.9$ Hz, H-20), 4.10 (1H, brs, H-14), 3.84 (1H, q, $J = 5.6$ Hz, H-19), 3.09 (1H, dd, $J = 14.7, 9.1$ Hz, H-9*a*), 2.68 (1H, dd, $J = 14.7, 6.1$ Hz, H-9*b*), 2.37~2.47 (1H, m, H-18*a*), 2.26 (1H, m, H-18*b*), 1.87 (3H, brs, H-17), 1.54 (3H, brs, H-12), 1.22 (3H, brs, H-13); ¹³C-NMR (150 MHz, acetone-*d*₆) δ : 207.8 (C-21), 187.4 (C-4), 166.9 (C-7), 166.0 (C-23), 165.2 (C-25), 162.9 (C-5), 161.0 (C-8*a*), 160.4 (C-2'), 160.4 (C-4'), 156.9 (C-31), 155.6 (C-29), 136.0 (C-11), 134.3 (C-33), 133.8 (C-16), 128.1 (C-27), 124.7 (C-6'), 121.9 (C-15), 121.2 (C-1'), 120.4 (C-28), 117.6 (C-10), 113.1 (C-22), 108.1 (C-6), 108.1 (C-5'), 107.9 (C-26), 106.6 (C-32), 102.8 (C-24), 102.6 (C-3), 101.5 (C-30), 99.1 (C-4*a*), 98.6 (C-3'), 95.7 (C-8), 91.0 (C-2), 47.2 (C-20), 34.8 (C-14), 32.9 (C-18), 31.9 (C-19), 31.1 (C-9), 24.6 (C-12), 22.9 (C-17), 17.2 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 鉴定化合物 **2** 为桑根酮 **O**。

化合物 **3**: 淡黄色粉末, ¹H-NMR (600 MHz, acetone-*d*₆) δ : 12.47 (1H, brs, 5-OH), 12.11 (1H, brs, 23-OH), 8.35 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-27), 7.32 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-33), 6.49 (1H, dd, $J = 7.9, 2.0$ Hz, H-5'), 6.46 (1H, brs, H-30), 6.37 (1H, brd, $J = 8.1$ Hz, H-26), 6.34 (1H, brs, H-3'), 6.27 (1H, brd, $J = 8.3$ Hz, H-32), 6.20 (1H, brs, H-24),

5.76 (1H, s, H-8), 5.53 (1H, brs, H-15), 5.20 (1H, brt, $J=7.6$ Hz, H-10), 4.57 (1H, brt, $J=6.1$ Hz, H-20), 4.13 (1H, brs, H-14), 3.88 (1H, q, $J=5.7$ Hz, H-19), 3.10 (1H, dd, $J=14.8, 8.8$ Hz, H-9a), 2.73 (1H, dd, $J=14.8, 6.3$ Hz, H-9b), 2.41 (1H, dd, $J=18.0, 4.5$ Hz, H-18a), 2.27 (1H, brd, $J=16.9$ Hz, H-18b), 1.86 (3H, brs, H-17), 1.60 (3H, brs, H-12), 1.52 (3H, brs, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, acetone- d_6) δ : 207.8 (C-21), 187.4 (C-4), 166.8 (C-7), 165.1 (C-25), 161.0 (C-23), 160.3 (C-5), 160.3 (C-8a), 158.7 (C-2'), 158.7 (C-4'), 156.8 (C-31), 155.6 (C-29), 135.9 (C-11), 134.0 (C-16), 133.8 (C-33), 128.2 (C-27), 125.4 (C-6'), 124.7 (C-15), 121.9 (C-1'), 120.3 (C-28), 117.7 (C-10), 113.0 (C-22), 108.8 (C-5'), 108.1 (C-6), 107.9 (C-32), 106.6 (C-26), 104.5 (C-24), 102.8 (C-30), 102.6 (C-3), 99.0 (C-4a), 98.6 (C-3'), 95.6 (C-8), 91.0 (C-2), 47.4 (C-20), 34.9 (C-14), 33.1 (C-18), 32.0 (C-19), 31.1 (C-9), 25.1 (C-12), 22.9 (C-17), 17.2 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 鉴定化合物 **3** 为桑根酮 C。

化合物 **4**: 淡黄色粉末, ^1H -NMR (600 MHz, acetone- d_6) δ : 7.40 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-4), 7.17 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-14'), 7.14 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-20'), 7.04 (1H, brs, H-3), 7.00 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-2'), 6.96 (1H, brs, H-7), 6.96 (2H, s, H-6'), 6.80 (1H, brd, $J=8.4$ Hz, H-5), 6.53 (1H, dd, $J=8.6, 2.4$ Hz, H-19'), 6.46 (1H, d, $J=5.3$ Hz, H-2'), 6.39 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-17'), 6.37 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-13'), 5.21 (1H, t, $J=7.2$ Hz, H-22'), 3.67 (1H, brs, H-3'), 3.33 (2H, t, $J=5.6$ Hz, H-21'), 3.02 (1H, d, $J=5.4$ Hz, H-4'), 3.02 (1H, d, $J=5.4$ Hz, H-5'), 2.73 (1H, brs, H-6'), 1.80 (3H, brs, H-7'), 1.71 (3H, brs, H-24'), 1.56 (3H, brs, H-25'); ^{13}C -NMR (150 MHz, acetone- d_6) δ : 157.0 (C-6), 155.9 (C-2), 154.0 (C-7a), 151.8 (C-12'), 133.1 (C-1'), 130.4 (C-23'), 130.2 (C-1'), 127.1 (C-14'), 125.3 (C-20'), 122.9 (C-22'), 121.7 (C-3a), 121.6 (C-2'), 121.1 (C-4), 116.2 (C-4'), 112.6 (C-11'), 112.4 (C-5), 109.5 (C-19'), 106.8 (C-13'), 105.1 (C-6'), 104.3 (C-2'), 103.1 (C-17'), 101.6 (C-3), 97.5 (C-7), 36.4 (C-3'), 35.1 (C-6'), 34.7 (C-5'), 27.8 (C-4'), 25.0 (C-25'), 23.0 (C-7'), 22.1 (C-21'), 17.0 (C-24')。以上数据与文献报道基本一致^[15], 经鉴定化合物 **4** 为桑味喃 F。

化合物 **5**: 淡黄色粉末, ^1H -NMR (600 MHz, acetone- d_6) δ : 12.30 (1H, s, 5-OH), 7.40 (1H, d, $J=8.2$

Hz, H-6'), 7.14 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-33), 6.98 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-27), 6.55 (1H, dd, $J=8.2, 2.1$ Hz, H-5'), 6.52 (1H, dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, H-32), 6.43 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-3'), 6.43 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-24), 6.36 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-30), 6.33 (1H, d, $J=5.5$ Hz, H-15), 6.20 (1H, dd, $J=8.6, 2.1$ Hz, H-26), 5.97 (1H, s, H-8), 5.22 (1H, t, $J=7.3$ Hz, H-10), 3.42 (1H, dd, $J=12.1, 5.5$ Hz, H-20), 3.29 (1H, t, $J=5.6$ Hz, H-14), 3.15 (1H, dd, $J=14.8, 9.3$ Hz, H-9a), 2.95 (1H, m, H-19), 2.76 (1H, m, H-18a), 2.74 (1H, m, H-9b), 2.05 (1H, m, H-18b), 1.77 (3H, brs, H-17), 1.57 (3H, brs, H-13), 1.46 (3H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, acetone- d_6) δ : 187.2 (C-4), 161.5 (C-7), 160.1 (C-8a), 159.5 (C-2'), 159.5 (C-4'), 158.3 (C-25), 156.1 (C-23), 156.1 (C-31), 155.2 (C-29), 151.3 (C-5), 134.8 (C-11), 132.4 (C-16), 128.0 (C-27), 126.0 (C-33), 124.0 (C-6'), 120.2 (C-1'), 120.2 (C-15), 116.9 (C-10), 115.2 (C-28), 114.4 (C-22), 108.0 (C-5'), 107.9 (C-32), 105.3 (C-6), 105.3 (C-26), 102.7 (C-24), 101.8 (C-21), 101.8 (C-30), 100.5 (C-3), 99.6 (C-4a), 97.7 (C-3'), 94.5 (C-8), 90.3 (C-2), 26.3 (C-20), 34.4 (C-18), 31.8 (C-14), 29.8 (C-9), 35.0 (C-19), 23.8 (C-12), 21.9 (C-17), 16.3 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[16-17], 鉴定化合物 **5** 为 cathayanin B。

化合物 **6**: 淡黄色粉末, ^1H -NMR (600 MHz, acetone- d_6) δ : 7.40 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-4), 7.23 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-14'), 7.14 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-20'), 7.04 (1H, brs, H-3), 6.97 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-7), 6.97 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-6'), 6.94 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 6.81 (1H, dd, $J=8.4, 2.1$ Hz, H-5), 6.50 (1H, dd, $J=8.4, 2.5$ Hz, H-19'), 6.45 (1H, d, $J=5.5$ Hz, H-2'), 6.42 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-11'), 6.37 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-17'), 6.22 (1H, dd, $J=8.6, 2.4$ Hz, H-13'), 3.48 (1H, t, $J=5.8$ Hz, H-3'), 3.36 (1H, dd, $J=12.0, 5.5$ Hz, H-4'), 2.97~3.01 (1H, m, H-5'), 2.72 (1H, dd, $J=17.0, 5.5$ Hz, H-6'a), 2.01~2.09 (1H, m, H-6'b), 1.78 (3H, brs, H-7'); ^{13}C -NMR (150 MHz, acetone- d_6) δ : 159.9 (C-10'), 158.0 (C-18'), 157.8 (C-12'), 157.5 (C-6), 156.8 (C-5'), 156.7 (C-2), 155.1 (C-3'), 154.6 (C-16'), 153.4 (C-7a), 133.7 (C-1'), 131.1 (C-1'), 130.4 (C-14'), 127 (C-20'), 122.9 (C-2'), 122.5 (C-3a), 122.0 (C-4), 117.5 (C-4'), 116.9 (C-15'), 113.4 (C-5), 113.2 (C-9'), 109.8 (C-19'), 107.1 (C-13'), 105.3 (C-

6'), 105.0 (C-2'), 104.5 (C-17'), 103.9 (C-11'), 102.6 (C-8'), 102.3 (C-3), 98.3 (C-7), 37.2 (C-3'), 36.3 (C-6'), 35.2 (C-5'), 28.5 (C-4'), 23.9 (C-7'). 以上数据与文献报道基本一致^[15], 鉴定化合物 **6** 为桑味喃 G。

4 化合物对 PPAR γ 蛋白的结合作用考察

4.1 方法

根据 PolarScreen™ TR-FRET PPAR γ 竞争剂检测试剂盒说明书进行实验。36.6 nmol/L PPAR γ 配体结合区 (PPAR γ -LBD)、9 nmol/L 荧光 PPRR 配体 Fluormone™ PPAR (Fluormone™ PPAR Green) 与 10 μ L 不同浓度的待测化合物溶液 (10.0、1.0、0.3 μ mol/L)、SGF 溶液 (20、10、3.0、1.0、0.3、0.1 μ mol/L)、阳性对照 GW9662 溶液 (10、2 μ mol/L, 400、80、16、3.2、0.64 nmol/L) 充分混合后 (最终样品体系中含 1% DMSO), 加至 384 孔荧光酶标板, 离心 1 min, 贴膜, 在 25 °C 生化培养箱中孵育 2 h。以相同体积 1% DMSO 作为溶剂对照; 以相同体积缓冲液作为空白对照。孵育结束后, 使用微孔板读数仪进行荧光偏振检测。按以下公式计算各检测样品的抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{溶剂对照}}) / (A_{\text{空白对照}} - A_{\text{溶剂对照}})$$

4.2 结果

由表 2 可知, 化合物 **1** 仅在 10 μ mol/L 浓度下呈现微弱的抑制活性, 提示其与 PPAR γ 缺乏有效结合; 化合物 **3** 在 10 μ mol/L 浓度下表现出一定的 PPAR γ 配体结合活性, 但明显弱于其生源前体 SGF ($IC_{50} = 2.87 \mu$ mol/L)。GW9662 的 IC_{50} 为 26.37 nmol/L。这一结果提示, SGF 形成 Diels-Alder 加合物后, 其 PPAR γ 配体结合能力大幅下降; 当化合物 **3** 的 2 位异戊烯基双键被氧化后, 其 PPAR γ 配体结合活性明显减弱。

5 讨论

本研究在前期工作基础上, 系统开展了黑桑中

Diels-Alder 型加合物的分离鉴定及活性筛选研究。综合运用大孔吸附树脂、正相与反相硅胶柱色谱、凝胶柱色谱等多种分离技术, 从黑桑乙醇提取物中成功分离得到 6 个 Diels-Alder 型加合物。其中, 化合物 **1** 经高分辨质谱、一维及二维核磁共振波谱等现代波谱学手段鉴定, 确认为 1 个未见文献报道的新化合物。该化合物由 1 分子桑根酮型黄酮与 1 分子查耳酮经分子间 [4+2] 环加成反应生成, 其 C-2 位异戊烯基侧链氧化后与 C-3 位通过氧桥形成六元环, 最终构建出结构新颖的 [4,4,3] 桥环体系。该发现进一步丰富了黑桑中特征性 Diels-Alder 型加合物的结构多样性。

在活性评价方面, 本研究初步考察了化合物 **1** 对 PPAR γ 的配体结合能力。PPAR γ 作为调控脂肪细胞分化、糖脂代谢及炎症反应的关键核受体, 其部分激动剂 (如噻唑烷二酮类药物) 虽在临床上为有效的 2 型糖尿病治疗药物, 但其使用受限于水钠潴留、体质量增加等不良反应。当前, 发掘结构新颖且具有选择性的 PPAR γ 天然调节剂具有重要的学术价值与应用前景。前期研究已表明, 黑桑中的桑根酮型黄酮类成分具有显著的 PPAR γ 配体结合活性, 其中 SGF 是该类成分中最具代表性的化合物之一。SGF 是化合物 **3** 的生源前体, 化合物 **1** 为 **3** 的异戊烯基双键的氧化衍生物。值得注意的是, 与 SGF 相比, 化合物 **3** 对 PPAR γ 的配体结合活性明显减弱, 提示当 SGF 的 7 位异戊烯基发生 Diels-Alder 环加成修饰后, 其 PPAR γ 配体结合活性明显减弱; 同时, 当化合物 **3** 结构中的 C-2 位上的异戊烯基双键发生氧化形成六元环后, 其 PPAR γ 配体结合活性也明显降低。本结果为进一步探讨该类加合物的构效关系提供了重要参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 周永科. 维吾尔药黑桑枝化学成分研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2024.
- [2] 申莉萍, 毛旭东, 陈天鸿, 等. 黑桑中 1 个新的二苯乙烯衍生物 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2253-2258.
- [3] 姜玥, 刘洋洋, 田海涛, 等. 桑属植物中异戊烯基黄酮类化合物及其药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(21): 6948-6958.
- [4] Luo S Y, Zhu J Y, Zou M F, *et al.* Mulberry Diels-Alder-type adducts: Isolation, structure, bioactivity, and synthesis [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2022, 12(1): 31.
- [5] Batiha G E, Al-Snafi A E, Thuwaini M M, *et al.* *Morus*

表 2 化合物 **1** 和 **3** 的 PPAR γ 配体结合活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 PPAR γ ligand-binding activity of compounds **1** and **3** ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	剂量/ (μ mol·L ⁻¹)	抑制率/%
1	10.0	9.3 $\pm$ 3.2
	1.0	2.9 $\pm$ 3.4
	0.3	1.5 $\pm$ 0.4
3	10.0	37.9 $\pm$ 2.1
	1.0	1.8 $\pm$ 0.2
	0.3	1.3 $\pm$ 0.5

- alba*: A comprehensive phytochemical and pharmacological review [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2023, 396(7): 1399-1413.
- [6] Mirza A Z, Althagafi I I, Shamshad H. Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: Physiological importance and clinical implications [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 166: 502-513.
- [7] 贾安, 王玲玲, 靳建杰, 等. 维药黑桑中 1 个新的桑根酮型二氢黄酮化合物及其胰岛素增敏活性 [J]. *中草药*, 2023, 54(1): 45-50.
- [8] Wang L L, Wang J W, Ma M J, *et al.* Prenylated flavonoids from *Morus nigra* and their insulin sensitizing activity [J]. *Phytochemistry*, 2022, 203: 113398.
- [9] Xu L J, Yu M H, Huang C Y, *et al.* Isoprenylated flavonoids from *Morus nigra* and their PPAR γ agonistic activities [J]. *Fitoterapia*, 2018, 127: 109-114.
- [10] Zhang J P, Li W R, Wu S, *et al.* Prenylated C(6)-C(3) derivatives from the stems and branches of *Illicium ternstroemioides* A. C. Smith with antiviral activity [J]. *Phytochemistry*, 2021, 192: 112935.
- [11] Kouno I, Shimamoto S, Jiang Z H, *et al.* Prenylated C6-C3 compounds from root bark of *Illicium anisatum* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46(8): 1389-1392.
- [12] Ma S G, Tang W Z, Liu Y X, *et al.* Prenylated C6-C3 compounds with molecular diversity from the roots of *Illicium oligandrum* [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(1): 115-125.
- [13] Qi C, Xiong Y, Eschenbrenner-Lux V, *et al.* Asymmetric syntheses of the flavonoid Diels-Alder natural products sanggenons C and O [J]. *J Am Chem Soc*, 2016, 138(3): 798-801.
- [14] 陆向红, 任其龙, 苏云, 等. 从桑白皮中提取药物成分桑根酮 C [J]. *浙江大学学报: 理学版*, 2001, 28(6): 665-671.
- [15] Nomura T, Fukai T, Hano Y, *et al.* Structures of mulberrofurans F and G, two natural hypotensive Diels-alder type adducts from the cultivated mulberry tree (*Morus lhou* (Ser.) Koidz.) [J]. *Heterocycles*, 1984, 22(3): 473.
- [16] Nomura T, Shi Y Q, Fukai T, *et al.* Absolute structures of 3-hydroxy-2-prenylflavanones with an ether linkage between the 2'- and 3-positions from moraceous plants [J]. *Heterocycles*, 2001, 55(1): 13.
- [17] Ni G, Zhang Q J, Wang Y H, *et al.* Chemical constituents of the stem bark of *Morus cathayana* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12: 505-515.

[责任编辑 王文倩]