

诺丽种子的化学成分及其抗炎活性研究

魏琴芝^{†,a,b,c} 余章昕^{†,b,c} 徐 盟^{a,b,c} 徐 伟^a 岑福凌^{a,b,c}
张雅琦^{b,c} 李小宝^{*,b,c} 陈光英^{*,a,b,c}

(^a 福建中医药大学药学院 福州 350122)

(^b 海南师范大学热带药用资源化学教育部重点实验室 海口 571158)

(^c 海南师范大学化学与化工学院 热带药用植物化学海南省重点实验室 海口 571158)

摘要 从诺丽种子中分离纯化得到一个新的倍半木脂素 moricitan A (**1**), 一个新天然产物 4-甲氧基异美洲素 A (**2**), 一个新的蒽醌 2,4-二羟基-3,8-二甲氧基-7-(甲氧基甲基)-9,10-蒽二酮(**7**)和 7 个已知的化合物 **3**~**6** 和 **8**~**10**, 其结构通过多种现代波谱技术进行确定, 化合物 **1** 的绝对构型通过圆二色谱(ECD)计算确定. 评价了所有化合物对脂多糖(LPS)诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 产生一氧化氮(NO)的抑制作用, 化合物 **1** 和 9'-ethyl americanol A (**3**)表现出较好的抗炎活性, 其 IC₅₀ 分别为(2.52±0.22)和(5.46±0.89) μmol/L, 强于阳性对照地塞米松[IC₅₀ 为(65.39±1.02) μmol/L].

关键词 海巴戟; 诺丽; 木脂素; 蒽醌; 抗炎活性

Studies on the Chemical Constituents from the Seeds of Noni and Their Anti-inflammatory Bioactivity

Wei, Qinzhi^{†,a,b,c} Yu, Zhangxin^{†,b,c} Xu, Meng^{a,b,c} Xu, Wei^a Cen, Fuling^{a,b,c}
Zhang, Yaqi^{b,c} Li, Xiaobao^{*,b,c} Chen, Guangying^{*,a,b,c}

(^a College of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122)

(^b Key Laboratory of Tropical Medicinal Resources Chemistry of Ministry of Education, Hainan Normal University, Haikou 571158)

(^c Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Hainan Province, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hainan Normal University, Haikou 571158)

Abstract A new sesqueneolignan moricitan A (**1**), a new natural product 4-methoxy isoamericanin A (**2**), a new anthraquinone 1,3-dihydroxy-2,5-dimethoxy-6-(methoxymethyl)anthracene-9,10-dione (**7**), and seven known compounds **3**~**6** and **8**~**10** were obtained from the seeds of Noni. The structures were elucidated using comprehensive spectroscopic methods, and the absolute configuration of **1** was established based on quantum-chemical electronic circular dichroism calculations. The inhibitory activity of all the compounds on NO production in lipopolysaccharide-induced (LPS) mouse leukemia cells of monocyte macrophage (RAW 264.7) cells was evaluated. Compound **1** and 9'-ethyl americanol A (**3**) exhibited stronger anti-inflammatory activity *in vitro* with IC₅₀ values of (2.52±0.22) and (5.46±0.89) μmol/L to that of dexamethasone [IC₅₀=(65.39±1.02) μmol/L], respectively.

Keywords *Morinda citrifolia*; Noni; lignan; anthraquinone; anti-inflammatory

诺丽(*Morinda citrifolia*)又名海巴戟, 为茜草科(Rubiaceae)海巴戟天属(*Morinda*)的常绿灌木或小乔木, 主要分布于热带、亚热带地区, 在我国的海南岛、西沙

群岛和台湾等地区广泛种植^[1-2]. 诺丽果是一种聚花果, 由其发酵产生的原浆, 即诺丽酵素为新资源食品, 具有很好的保健作用, 现代药理学研究表明诺丽酵素具有降

* Corresponding authors. E-mail: lixiaobao0797@163.com; chgying123@163.com

Received September 11, 2023; revised November 16, 2023; published online December 7, 2023.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 22367008, 21662012), the Innovation Platform for Academicians of Hainan Province (No. YSPTZX202030), the Central Government Guides Local Science and Technology Development (No. ZY2022HN08) and the Hainan Normal University "Innovative Entrepreneurship Training Program for College Students" (No. HSCX2023-17).

国家自然科学基金(Nos. 22367008, 21662012)、海南省院士创新平台(No. YSPTZX202030)、中央引导地方科技发展专项(No. ZY2022HN08)及海南师范大学“大学生创新创业训练计划”(No. HSCX2023-17)资助项目.

[†] 共同第一作者(These authors contributed equally to this work).

血糖、降尿酸等作用^[3-4]。国内外学者对诺丽果的化学成分进行研究,从中发现了环烯醚萜类、木脂素类、萘醌类、黄酮类等化合物^[5-6]。

课题组前期在诺丽果及其种子的化学成分研究中发现了一些结构新颖且具有较好生物活性的生物碱和倍半萜类成分,部分化合物表现出较好的降血糖、 α -葡萄糖苷酶抑制作用及抗炎等作用^[7-10]。为了追踪诺丽中化学成分的多源性及更突出的生物活性单体化合物,我们对诺丽种子的化学成分进行了深入的研究,从中分离得到一个新的倍半木脂素 moricitan A (**1**)、一个新天然产物 4-甲氧基异美洲素 A (**2**)、一个新的萘醌 2,4-二羟基-3,8-二甲氧基-7-(甲氧基甲基)-9,10-萘二酮(**7**)和 7 个已知的化合物**3**~**6**和**8**~**10**(图 1)。本文报道化合物**1**~**10**的分离和结构鉴定及其抗炎活性研究。

1 结果与讨论

化合物 **1**: 淡黄色油状物, 易溶于甲醇。经高分辨质谱 HR-ESI-MS (m/z 491.1345 $[M-H]^-$, 理论值 491.1348) 确定其分子式为 $C_{27}H_{24}O_9$, 不饱和度为 16。 1H NMR (CD_3OD , 600 MHz)(表 1) 谱中低场区显示一个醛基氢信号 δ_H 9.55 (dd, $J=1.2, 7.8$ Hz, 1H, H-2'), 一个双键氢信号 δ_H 7.56 (d, $J=15.6$ Hz, 1H, H-7) 和 6.59 (dd, $J=7.8, 15.6$ Hz, 1H, H-8), 两个 ABX 体系的苯环氢信号 [δ_H : 6.94 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, H-2'), 6.95 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-5'), 6.91 (dd, $J=2.4, 8.4$ Hz, 1H, H-6'), 6.84 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, H-2''), 6.80 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-5'') 和 6.76 (dd, $J=2.4, 8.4$ Hz, 1H, H-6'')], 两个间位偶合苯环氢信号 δ_H 7.06 (d, $J=1.8$ Hz, 1H, H-2) 和 7.15 (d, $J=1.8$ Hz, 1H, H-6), 四个次甲基氢信号 5.62 (d, $J=6.0$ Hz, 1H, H-7'), 3.53 (d, $J=6.0, 12.0$ Hz, 1H, H-8'), 4.84 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, H-7'') 和 3.98~4.01 (m, 1H, H-8''), 以及两个羟甲基氢信号 δ_H : 3.81 (dd, $J=6.6, 11.4$ Hz, 1H, H-9'a), 3.86 (dd,

$J=4.8, 11.4$ Hz, 1H, H-9'b), 3.48 (dd, $J=4.8, 12.4$ Hz, 1H, H-9'a) 和 3.53 (d, $J=3.0, 12.4$ Hz, 1H, H-9'b)。 ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz)(表 1) 谱共显示 27 个碳信号, 包含 1 个 α,β -不饱和醛碳信号 [δ_C 196.2 (C-9), 156.3 (C-7), 126.8 (C-8)], 两个羟甲基信号 [δ_C 64.8 (C-9'), 62.1 (C-9'')], 四个次甲基碳信号 [δ_C 89.3 (C-7'), 80.0 (C-8'), 77.6 (C-7'') 和 55.1 (C-8')], 以及三个苯环碳信号。以上数据特征表明化合物 **1** 为倍半木脂素类化合物^[11-12]。仔细分析其 1H NMR 与 ^{13}C NMR 数据, 发现化合物 **1** 在结构上与 Jean 等^[13] 申报专利保护的化合物 *hypothèse A* 很相似, 主要区别在于化合物 **1** 中少了一个芳香氢及一个羟甲基信号, 多了一个醛基信号及氧化的芳香碳信号, 推测 *hypothèse A* 中的羟甲基 [δ_H 4.16~4.18 (m, 2H)] 在 **1** 中被氧化为醛基 [δ_H 9.55 (dd, $J=1.2, 7.8$ Hz, 1H)], 芳香氢被羟基取代 (δ_C 143.0)。通过 1H - 1H COSY (correlation spectroscopy) 谱(图 2)、H-7/H-8/H-9 相关, 以及 HMBC (heteronuclear multiple-bond correlation) 谱中 H-9 和 C-8 (126.8)/C-7 (156.3), H-7 和 C-9 (196.2)/C-2 (117.6)/C-6 (118.8), 以及 H-2 和 C-7/C-3 (143.0) 相关(图 2) 确定以上推论。化合物的相对构型通过偶合常数与 NOESY (nuclear overhauser effect spectroscopy) 谱确定, 通过 H-7'/H-8', H-7''/H-8'' 之间的偶合常数 $J_{H-7'/H-8'}=6.0$ Hz, $J_{H-7''/H-8''}=8.4$ Hz, 推测 H-7'/H-8' 与 H-7''/H-8'' 为反式构型^[14-15]。在 NOESY 谱, H-7'/H-2-9', H-7''/H-2-9'' 的相关信号也进一步证实了 H-7'/H-8' 与 H-7''/H-8'' 为反式。理论上化合物 **1** 有四种绝对构型 **1a** (7'R,8'S,7''S,8''S), **1a'** (7'S,8'R,7''R,8''R), **1b** (7'R,8'S,7''R,8''R), **1b'** (7'S,8'R,7''S,8''S)。化合物 **1** 经手性色谱柱分析, 发现其为光学纯物质。通过圆二色谱(ECD)计算(图 3), 发现 **1a** 与测试结果基本相符, 因此确定了化合物的绝对构型为 (7'R,8'S,7''S,8''S), 即 (7'R,8'S,7''S,8''S)-3,3'',4'',9',9''-五羟基-1-丙烯醛基-7',8'-苯并二氢呋喃-3',7'':4',8''-二氧杂环倍半木脂素,

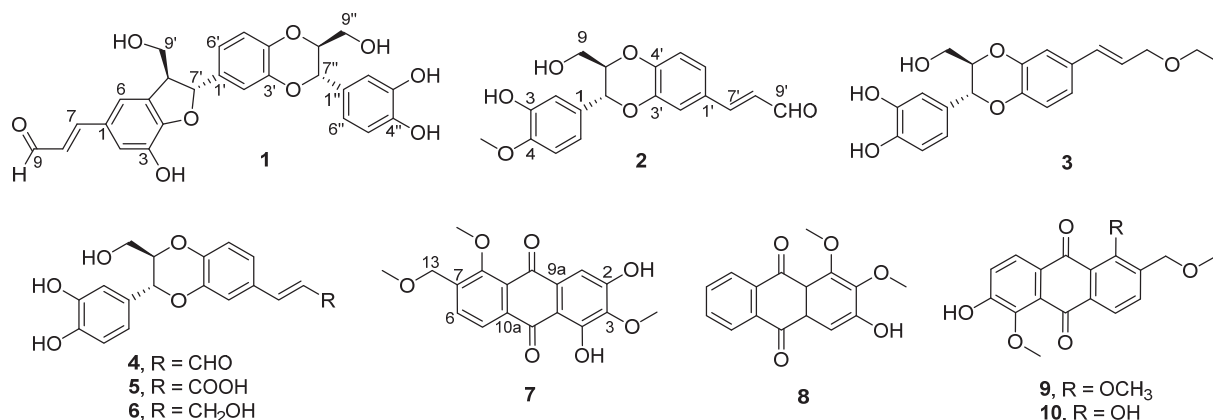


图 1 化合物**1**~**10**的结构
Figure 1 Structures of compounds **1**~**10**

表 1 化合物 1 的 ^1H NMR (600 MHz) 和 ^{13}C NMR (150 MHz) 数据(CD_3OD)
Table 1 ^1H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compound 1 (CD_3OD)

No.	1		2	
	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1		129.6 (C)		127.7 (C)
2	7.06, d (1.8)	117.6 (CH)	6.93, d (1.8)	109.4 (CH)
3		143.0 (C)		146.6 (C)
4		152.1 (C)		147.2 (C)
5		131.1 (C)	6.97, d (8.1)	114.9 (CH)
6	7.15, d (1.8)	118.8 (CH)	6.96, dd (1.8, 8.1)	121.0 (CH)
7	7.56, d (15.6)	156.3 (CH)	4.97, d (8.3)	76.5 (CH)
8	6.59, dd (7.8, 15.6)	126.8 (CH)	4.09, ddd (2.7, 3.9, 8.3)	78.9 (CH)
9	9.55, dd (1.2, 7.8)	196.2 (CH)	3.83, dd (2.7, 12.6)	61.7 (CH_2)
1'		136.0 (C)		128.1 (C)
2'	6.94, d (2.4)	115.5 (CH)	7.21, d (2.1)	117.3 (CH)
3'		145.3 (C)		144.4 (C)
4'		144.8 (C)		146.3 (C)
5'	6.95, d (8.4)	118.2 (CH)	7.02, d (8.4)	117.8 (CH)
6'	6.91, dd (2.4, 8.4)	119.8 (CH)	7.14, dd (2.1, 8.4)	123.0 (CH)
7'	5.62, d (6.0)	89.3 (CH)	7.37, d (15.8)	152.6 (CH)
8'	3.53, dd (6.0, 12.0)	55.1 (CH)	6.57, dd (7.7, 15.8)	127.4 (CH)
9'	3.81, dd (6.6, 11.4)	64.8 (CH_2)	9.65, d (7.7)	193.8 (CH)
	3.86, dd (4.8, 11.4)			
1''		129.5 (C)		
2''	6.84, t (2.4)	115.6 (CH)		
3''		146.7 (C)		
4''		147.2 (C)		
5''	6.80, d (8.4)	116.4 (CH)		
6''	6.76, dd (2.4, 8.4)	120.4 (CH)		
7''	4.84, d (8.4)	77.6 (CH)		
8''	3.98~4.01, m	80.0 (CH)		
9''	3.48, dd (4.8, 12.4)	62.1 (CH_2)		
	3.53, dd (3.0, 12.4)			
OCH_3 -4			3.93, s	56.2 (CH_3)

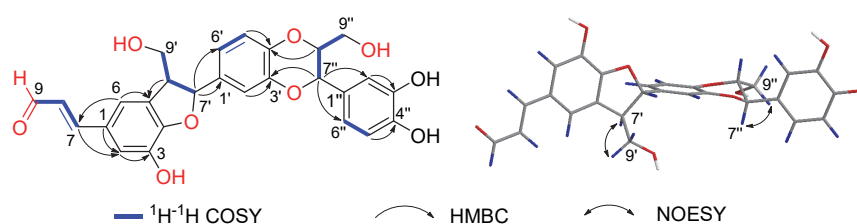


图 2 化合物 1 关键的 ^1H - ^1H COSY、HMBC 和 NOESY 相关
Figure 2 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC and NOESY correlations of compound 1

命名为 moricitan A.

化合物 2: 淡黄色粉末状物, 溶于甲醇氯仿. 其 HR-ESI-MS 显示该化合物的分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (m/z 365.0988 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 理论值为 365.0996), 不饱和度为 11. 仔细核对化合物 2 的 1D NMR (表 1) 数据, 推测化合物为新木脂素类化合物, 其核磁数据与化合物 isoamericanin A (4)^[16] 的数据非常相似, 主要差别在于, 化合物 4 的一个羟基被甲氧基取代. 通过 HMBC, OCH_3 -4 和

C-4 的相关确定甲氧基在 C-4 位. 其结构与 She 等^[17]报道的人工合成产物 4-methoxy isoamericanin A 一致, 但未见报道化合物的碳谱数据. 化合物 2 经手性色谱柱分析, 发现其为光学纯物质, 旋光值为 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 8.2$ (c 0.1, CH_3OH), 与文献中化合物 (7*R*, 8*R*)-3-甲氧基-1'-羧基-4', 7-环氧-8, 3'-氧化新木脂素-4, 9-二醇的旋光值类似 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 4.7$ (c 0.2, CH_3OH)^[18]. 经检索, 化合物 2 为新天然产物, 首次完整地报道其核磁数据.

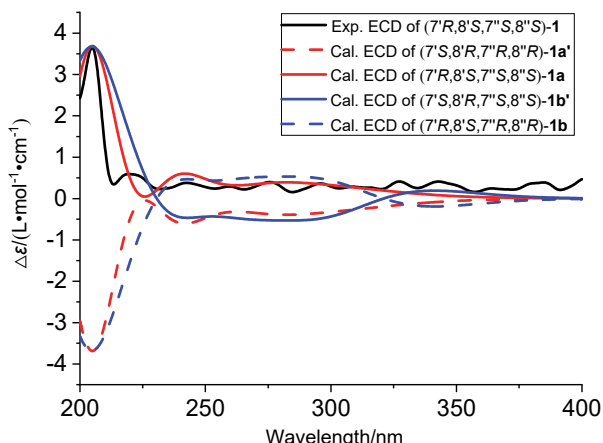


图3 化合物1的CD测试与ECD计算谱图(CH₃OH)

Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1 (in CH₃OH)

化合物 7: 黄色粉末状物, 易溶于氯仿, 溶于甲醇. 其 HR-ESI-MS 给出该化合物的分子式为 C₁₈H₁₆O₇ (m/z 345.0959 [M+H]⁺, 理论值为 345.0969), 不饱和度为 11. ¹H NMR 谱(表2)显示 1 个缔合的羟基信号[δ_{H} 13.04 (s, 1H, OH-4)], 3 个蒽醌母环上的氢信号[δ_{H} 8.14 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-5), 7.86 (d, $J=8.0$ Hz, 1H, H-6), 7.41 (s, 1H, H-1)], 1 个亚甲基信号[δ_{H} 4.65 (s, 2H, H-13)], 3 个甲氧基信号[δ_{H} 4.13 (s, 3H, OCH₃-3), 3.93 (s, 3H, OCH₃-8), 3.50 (s, 3H, OCH₃-13)]. 在 ¹³C NMR 谱和 DEPT 谱(表2)共给出 18 个碳信号, 包括 2 个酮羰基[δ_{C} 187.4 (C-10), 181.2 (C-9)], 1 个亚甲基碳[δ_{C} 69.2 (C-13)], 3 个甲氧基[δ_{C} 62.3 (OCH₃-8), 61.3 (OCH₃-3)和 59.1 (OCH₃-13)], 及 2 个苯环碳信号, 以上数据表明化合物 7 是蒽醌类化合物. ¹H-¹H COSY 谱(图4), H-5/H-6 相关, 表明存在两个邻位的芳香氢. 在 HMBC 谱中, OCH₃-13 与 C-13, OCH₃-8 与 C-8 以及 OCH₃-3 与 C-3 相关, 分别确定这 3 个甲氧基的连接位置; H-13 与 C-6/C-7/C-8 的 HMBC 相关, 提示连氧亚甲基与蒽醌母环 C-7 相连, 以及 OH-4 与 C-4 (155.4), H-1 与 C-2 (155.8)的相关, 分别确定 2 个酚羟基在 C-2 和 C-4 位. 至此, 确定了该化合物 7 的结构, 命名为 2,4-二羟基-3,8-二甲氧基-7-(甲氧基甲基)-9,10-蒽二酮.

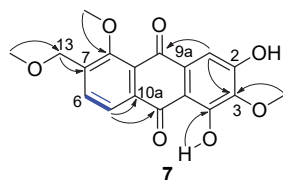


图4 化合物7关键的¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关

Figure 4 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlations of compound 7

表2 化合物7的¹H NMR (400 MHz)和¹³C NMR (100 MHz)数据(CDCl₃)

Table 2 ¹H NMR (400 MHz) and ¹³C NMR (100 MHz) data of compound 7 (CDCl₃)

No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	7.41, s	107.9 (CH)
2		155.4 (C)
3		138.3 (C)
4		155.5 (C)
5	8.14, d (8.0)	123.3 (CH)
6	7.86, d (8.0)	133.7 (CH)
7		141.3 (C)
8		158.7 (C)
9		181.2 (C)
10		187.4 (C)
10a		134.8 (C)
11		125.4 (C)
9a		131.2 (C)
12		111.4 (C)
13	4.65, s	69.2 (CH ₂)
OCH ₃ -3	4.13, s	61.3 (CH ₃)
OCH ₃ -8	3.93, s	62.3 (CH ₃)
OCH ₃ -13	3.50, s	59.1 (CH ₃)
OH-4	13.04, s	

7 个已知的木脂素和蒽醌化合物通过波谱数据和文献对照, 分别鉴定为 9'-ethyl americanol A (3)^[19], iso-americanin A (4)^[16], isoamericanic acid (5)^[20], isoamericaninol A (6)^[21], 3-羟基-1,2-二甲氧基-蒽醌(8)^[22], 2-羟基-1,5-二甲氧基-6-(甲氧基甲基)-9,10-蒽二酮(9)^[23], 1,6-二羟基-5-甲氧基-2-(甲氧基甲基)-9,10-蒽二酮(10)^[24].

通过测试脂多糖(LPS)诱导小鼠 RAW264.7 巨噬细胞生成一氧化氮(NO), 评价了化合物 1~10 的抗炎活性(表3), 以地塞米松为阳性对照药物. 化合物 1, 3 和 5 表现出较好的抗炎活性, 其 IC₅₀ 分别为(2.52 ± 0.22)、(5.46 ± 0.89)和(58.63 ± 12.23) μmol/L[阳性对照地塞米松 IC₅₀ 为(65.39 ± 1.02) μmol/L], 其中化合物 1 和 3 的活性优于阳性对照, 其余化合物均未表现出明显的抗炎活性.

表3 化合物 1, 3 和 5 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO 的抑制活性($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 3 Inhibitory activity of compounds 1, 3 and 5 on NO production in RAW264.7 cells induced by LPS ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
1	2.52 ± 0.22
3	5.46 ± 0.89
5	58.63 ± 12.23
地塞米松	65.39 ± 1.02

2 结论

运用多种色谱分离方法和波谱鉴定技术对诺丽果

种子的体积分数为 75% 的乙醇提取物中的化学成分进行了研究, 共分离鉴定了 10 个化合物, 包括 6 个木脂素类化合物和 4 个萜醌类化合物, 其中化合物 **1** 和 **7** 为新化合物, **2** 为新天然产物, 首次报道其碳谱数据, 化合物 **1** 和 **3** 表现出良好的抗炎活性. 本研究为诺丽的深加工利用及抗炎产品的开发提供理论基础依据.

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

JASCO DIP-370 型数字式旋光仪; Nicolet 6700 型红外光谱仪; JNM-ECZ600R/S1-600 MHz 型核磁共振仪; Bruker AV-400 MHz 型核磁共振仪; UltiMate3000-RSLC 超高效液相色谱仪(Thermo Fisher Scientific 公司); LCMS-IT-TOF 超高效液相色谱-高分辨质谱联用仪(日本岛津公司); 半制备高效液相色谱仪 Agilent 1260 infinity; 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20[安法玛西亚技术(上海)有限公司]; Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm × 9.4 mm, 5 μm); 反相硅胶 RP-18 (YMC 公司; 12~50 μm); 柱层析硅胶和薄层层析硅胶板(青岛海洋化工厂); 色谱试剂均为分析纯.

3.2 植物材料

诺丽果实于 2019 年 11 月采摘于海南省海口市海南师范大学科技园诺丽种植园, 经海南师范大学生命科学学院陈玉凯鉴定为茜草科巴戟天属植物海滨木巴戟 *M. citrifolia* 的果实, 种子从果实中剥离而得.

3.3 提取与分离

将 10.0 kg 干燥的诺丽种子粉碎, 用石油醚、乙酸乙酯、体积分数为 75% 的乙醇分别浸泡提取, 每种溶剂提取 3 次, 减压浓缩得到对应提取部分. 经称量, 石油醚部位 134.0 g、乙酸乙酯部位 106.8 g、乙醇部位 86.7 g. 对乙醇部位浸膏进行硅胶柱层析(100~200 目), 以溶剂氯仿/甲醇($V: V=50:1\sim1:10$)进行梯度洗脱得到 18 个组分 Fr.1~Fr.18. 组分 Fr.3~Fr.5 (Fr.A 1.2 g)再次经硅胶(200~300 目)柱色谱, 以氯仿/甲醇(100:1~1:100)梯度洗脱, 获取 5 个组分(Fr.A1~Fr.A5). 组分 Fr.A3~Fr.A4 (680 mg)通过 Sephadex LH-20 凝胶柱甲醇洗脱, 再通过半制备液相色谱 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ [250 mm × 9.4 mm, 5 μm, 3 mL/min, 体积分数 54% CH₃CN/H₂O]分离得到化合物 **7** (8 mg, $t_R=12$ min)、**8** (4 mg, $t_R=7$ min)、**9** (3 mg, $t_R=13$ min)以及 **10** (5 mg, $t_R=19$ min). 组分 Fr.B (Fr.6~Fr.8, 810 mg)经反相硅胶 [$V(\text{MeOH}): V(\text{H}_2\text{O})=5:100\sim100:1$]洗脱得到 6 个组分(Fr.Ba~Fr.Bf), Fr.Bb (120 mg)再经半制备型高效液相色谱仪 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm × 9.4 mm, 5

μm, 3 mL/min, 体积分数 28% CH₃CN/H₂O)分离得到化合物 **4** (14 mg, $t_R=21$ min)、**6** (10 mg, $t_R=16$ min). 组分 Fr.C (Fr.9~11, 680 mg)用反相硅胶 [$V(\text{MeOH}): V(\text{H}_2\text{O})=5:100\sim100:1$]洗脱得到 7 个组分(Fr.Ca~Fr.Cg), Fr.Ca~Fr.Cc (106 mg)再经半制备型高效液相色谱仪 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ [250 mm × 9.4 mm, 5 μm, 3 mL/min, 体积分数 28% CH₃CN/H₂O]分离得到化合物 **2** (6 mg, $t_R=32$ min)、**5** (8 mg, $t_R=18$ min). Fr.Cd (38 mg)再经半制备型高效液相色谱仪 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ [250 mm × 9.4 mm, 5 μm, 3 mL/min, 体积分数 58% MeOH/H₂O]分离, 得到化合物 **3** (8 mg, $t_R=16$ min). 组分 Fr.D (Fr.12~Fr.13, 4.7 g)用反相硅胶 [$V(\text{MeOH}): V(\text{H}_2\text{O})=5:100\sim100:1$]洗脱得到 18 个组分(Fr.Da~Fr.Dr), Fr.De (16 mg)再经半制备型高效液相色谱仪 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ [250 mm × 9.4 mm, 5 μm, 2 mL/min, 质量分数 31% CH₃OH/H₂O]分离得到化合物 **1** (3 mg, $t_R=28$ min).

moricitan A (**1**): 黄色油状物; $[\alpha]_D^{25} +13.0$ (c 0.1, CH₃OH); UV (CH₃OH) $\lambda_{\max}$ [$\log \epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$]: 208 (3.8), 232 (4.3), 318 (5.12) nm; ¹H NMR 和 ¹³C NMR (600/150 MHz, CD₃OD)数据见表 1; HR-ESI-MS calcd for C₂₇H₂₃O₉ $[M-H]^-$ 491.1348, found 491.1345.

4-甲氧基异美洲素 A(**2**): 淡黄色粉末; $[\alpha]_D^{25} +8.2$ (c 0.1, CH₃OH); UV (CH₃OH) $\lambda_{\max}$ [$\log \epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$]: 207 (5.11), 226 (4.96), 334 (4.93) nm; ¹H NMR 和 ¹³C NMR (400/100 MHz, CDCl₃)数据见表 1; HR-ESI-MS calcd for C₁₉H₁₈NaO₆ $[M+Na]^+$ 365.0996, found 365.0988.

2,4-二羟基-3,8-二甲氧基-7-(甲氧基甲基)-9,10-萜二酮(**7**): 黄色粉末状; UV (CH₃OH) $\lambda_{\max}$ [$\log \epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$]: 209 (4.58), 245 (4.40), 281 (4.42) nm; ¹H NMR 和 ¹³C NMR (400/100 MHz, CDCl₃)数据见表 2; HR-ESI-MS calcd for C₁₈H₁₇O₇ $[M+H]^+$ 345.0969, found 345.0959.

3.4 ECD 计算

应用 Spartan 14 程序在默克分子力场(MMFF)下进行构象搜索, 结果显示化合物 **1** 有 4 个低能构象(< 41.868 kJ/mol), 并在 B3LYP/6-31G*水平下对低能构象进行优化, 最终确定这 4 个构象均为势能面上的极小点. 应用高斯软件在 SMD(甲醇)、B3LYP/6-311G*水平下, 利用含时密度泛函理论(TD-DFT)方法计算该构象的激发态的电子激发能、振子强度和旋转强度. 采用热校正方法, 评估它们在 298.15 K 时测定构象的吉布斯自由能与电子能. ECD 谱采用叠加高斯函数进行模拟, 并根据玻尔兹曼分布理论和它们的相对吉布斯自由能, 对构象的模拟光谱进行平均, 得到最终的光谱^[25].

3.5 活性测试

体外抗炎活性筛选采用小鼠单核巨噬细胞 RAW 264.7 模型^[26-27], 具体如下: RAW 264.7 细胞用含体积分数 10% 胎牛血清(FBS) DMEM (dulbecco's modified eagle medium) 培养液于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中常规培养。细胞按 1 × 10⁵/mL、200 μL/孔接种于 96 孔板中, 置于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 细胞培养箱中贴壁 24 h 后, 各组加入终浓度为 1 μg/mL LPS, 继续培养 24 h, 离心, 取上清液按照 Griess 法测定上清液中 NO 的含量。结果发现, 化合物 **1**, **3** 和 **5** 表现出较好的抗炎活性, 其 IC₅₀ 分别为(2.52 ± 0.22)、(5.46 ± 0.89)和(58.63 ± 12.23) μmol/L[阳性对照地塞米松 IC₅₀ 为(65.39 ± 1.02) μmol/L], 其中化合物 **1** 和 **3** 的活性优于阳性对照, 其余化合物均未表现出明显的抗炎活性。

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **1**, **2** 和 **7** 的 ¹H NMR, ¹³C NMR, HSQC, HMBC 和 HR-ESI-MS 谱。这些材料均可免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载。

References

- [1] Editorial committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences *Flora of China*, Vol. 71, Science Press, Beijing, **1999**, p. 182 (in Chinese). (中国科学院中国植物志编辑委员会, 中国植物志, 第 71 卷, 科学出版社, 北京, **1999**, p. 182.)
- [2] Wang, M. Y.; West, B. J.; Jensen, C. J.; Nowicki, D.; Su, C.; Palu, A. K.; Anderson, G. *Acta Pharmacol. Sin.* **2002**, *23*, 1127.
- [3] Algenstaedt, P.; Stumpfenhagen, A.; Westendorf, J. *Evid-Based. Compl. Alt.* **2018**, *2018*, 3565427.
- [4] Sanni, D. M.; Fatoki, T. H.; Kolawole, A. O.; Akinmoladun, A. C. *In Silico Pharmacol.* **2017**, *5*, 8.
- [5] Ang, M.; Kikuzaki, H.; Jin, Y.; Nakatani, N.; Zhu, N.; Csiszar, K.; Boyd, C.; Rosen, R. T.; Ghai, G.; Ho, C. T. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1182.
- [6] Liu, S. M.; Wang, Y.; Zhang, H. C.; Miao, J. N.; Qiu, J. Q.; Wang, K. X. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* **2012**, *43*, 2150 (in Chinese). (刘树民, 王宇, 张洪财, 苗静因, 邱军强, 王可心, 中草药, **2012**, *43*, 2150.)
- [7] Zhang, X. G.; Zhang, B.; Zhou, X. M.; Yu, Z. X.; Li, X. B.; Chen, G. Y. *Chin. J. Org. Chem.* **2022**, *42*, 1252 (in Chinese). (张旭光, 张斌, 周学明, 余章昕, 李小宝, 陈光英, 有机化学, **2022**, *42*, 1252.)
- [8] Xu, M.; Yu, Z. X.; Zhang, B.; Li, X. B.; Li, M. Y.; Xu, W.; Chen, G. Y. *China J. Chin. Mater. Med.* **2022**, *47*, 3519 (in Chinese). (徐盟, 余章昕, 张斌, 李小宝, 李牧原, 徐伟, 陈光英, 中国中药杂志, **2022**, *47*, 3519.)
- [9] Zhang, B.; Yu, Z. X.; Zhou, X. M.; Nong, X. H.; Li, X. B.; Wang, H.; Wang, H.; Chen, G. Y. *Fitoterapia* **2021**, *153*, 104946.
- [10] Zhao, Y. Y.; Yu, X. M.; Qiao, Z. H.; Li, J.; Tang, H. X.; Chen, G. Y.; Fu, Y. H. *China J. Chin. Mater. Med.* **2021**, *10*, 2519 (in Chinese). (赵莹莹, 于绍梅, 乔泽华, 李娟, 唐浩轩, 陈光英, 付艳辉, 中国中药杂志, **2021**, *10*, 2519.)
- [11] Yang, F.; Zhu, W.; Sun, S.; Ai, Q.; Edirisuriya, P.; Zhou, K. *J. Nat. Prod.* **2020**, *83*, 825.
- [12] Ma, Q. G.; Wei, R. R.; Yang, M.; Huang, X. Y.; Wang, F.; Dong, J. H.; Sang, Z. P. *Bioorg. Chem.* **2021**, *107*, 104622.
- [13] Jean, D.; Rabhi, C.; Schwaab, V. *FR 2851919*, **2004**.
- [14] Cheng, L.; Guo, D. L.; Zhang, M. S.; Lang, L. H.; Fu, S. B.; Deng, Y.; He, Y. Q.; Xiao, S. J. *Fitoterapia* **2020**, *143*, 104586.
- [15] Ma, Y. X.; Wang, H.; Wang, R.; Meng, F. C.; Dong, Z. Y.; Wang, G. W.; Lan, X. Z.; Quan, H.; Liao, Z. H.; Chen, M. *Phytochemistry* **2019**, *164*, 102.
- [16] Yang, X. L.; Jiang, M. Y.; Hsieh, K. L.; Liu, J. K. *Chin. J. Nat. Med.* **2009**, *7*, 119 (in Chinese). (杨小龙, 蒋孟圆, 谢坤龙, 刘吉开, 中国天然药物, **2009**, *7*, 119.)
- [17] She, X. G.; Gan, Y. H.; Wu, T. X.; Pan, X. F. *Chem. J. Chin. Univ.* **1998**, *19*, 1271 (in Chinese). (庠学功, 甘永宏, 武同兴, 潘鑫复, 高等学校化学学报, **1998**, *19*, 1271.)
- [18] Nguyen, P. H.; Yang, J. L.; Uddin, M. N.; Park, S. L.; Lim, S. I.; Jung, D. W.; Williams, D. R.; Oh, W. K. *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 2080.
- [19] Li, G. H.; Zhao, P. J.; Shen, Y. M.; Zhang, K. Q. *Acta Bot. Sin.* **2004**, *46*, 1122.
- [20] Chwan, F. L.; Ching, L. N.; Yu, L. H.; Shuenn, J. S.; Chien, C. C. *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 1199.
- [21] Waibel, R.; Benirschke, G.; Benirschke, M.; Achenbach, H. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 805.
- [22] Li, C. Y.; Gao, H.; Jiao, W. H.; Ding, B.; Li, X. B.; Yao, X. S. *J. Shenyang Pharm. Univ.* **2011**, *28*, 30 (in Chinese). (李晨阳, 高昊, 焦伟华, 丁博, 李晓彬, 姚新生, 沈阳药科大学学报, **2011**, *28*, 30.)
- [23] Kamiya, K.; Tanaka, Y.; Endang, H.; Umar, M.; Satake, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 12.
- [24] Akihisa, T.; Matsumoto, K.; Tokuda, H.; Yasukawa, K.; Seino, K.; Nakamoto, K.; Kuninaga, H.; Suzuki, T.; Kimura, Y. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 754.
- [25] Stephens, P. J.; Harada, N. *Chirality* **2010**, *22*, 229.
- [26] Huang, X. J.; Tang, J. Q.; Li, M. M.; Liu, Q.; Li, Y. L.; Fan, C. L.; Pei, H.; Zhao, H. N.; Wang, Y.; Ye, W. C. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2014**, *16*, 770.
- [27] Yu, Z. X.; Wang, C. H.; Zheng, W.; Chen, D. L.; Yang, Y.; Liu, Y. Y.; Wei, J. H. *Chin. Pharm. J.* **2019**, *54*, 1946. (in Chinese). (余章昕, 王灿红, 郑威, 陈德力, 杨云, 刘洋洋, 魏建和, 中国药理学杂志, **2019**, *54*, 1946.)

(Cheng, F.)