

香椿树皮化学成分及其抗炎活性研究

吴 苇¹, 沈寿茂¹, 王艳妮¹, 张 霞¹, 李金玉^{2,3*}, 潘卫东^{1*}

(1. 贵州大学药学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省天然产物研究中心, 贵州 贵阳 550014; 3. 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014)

摘要: 目的 研究香椿树皮化学成分及其抗炎活性。方法 采用硅胶、RP-18 反相硅胶、Sephadex LH-20 及 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 RAW264.7 模型评价其抗炎活性。结果 从中分离得到 16 个化合物, 分别鉴定为 (9Z)-18-hydroxyoctadec-9-en-4, 6-diyn-3-one (**1**)、toonapolyne C (**2**)、(9S, 10E, 16R)-octadec-10-ene-12, 14-diyne-1, 9, 16-triol (**3**)、(9S, 10E, 16R)-9, 16-dihydroxy-octadec-10-ene-12, 14-diyne-1-yl acetate (**4**)、toonapolyne A (**5**)、toonasindi-yne B (**6**)、东莨菪内酯 (**7**)、6, 7-二甲氧基香豆素 (**8**)、3-O-acetyl (-)-epicatech-hin (**9**)、对乙氧基乙酰苯胺 (**10**)、苦楝酸 (**11**)、 β -谷甾醇-3-O- β -D-葡萄糖苷 (**12**)、香草酸 (**13**)、臭矢菜素 A (**14**)、(-)-异落叶松树脂酚 (**15**)、白藜芦醇 (**16**)。化合物 **3~4**、**6**、**11~13** 对 NO 的 IC₅₀ 值分别为 6.90、10.49、20.03、9.49、18.34、24.36 μ mol/L。结论 化合物 **1** 为新的聚乙炔化合物, 化合物 **8~16** 为首次从香椿中分离得到。化合物 **3~4**、**6**、**11~13** 具有良好的抗炎活性。

关键词: 香椿; 树皮; 聚乙炔; 化学成分; 分离鉴定; 抗炎活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2950-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.019

Chemical constituents from the bark of *Toona sinensis* and their anti-inflammatory activity

WU Wei¹, SHEN Shou-mao¹, WANG Yan-ni¹, ZHANG Xia¹, LI Jin-yu^{2,3*}, PAN Wei-dong^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Natural Products Research Center, Guiyang 550014, China; 3. State key Laboratory of Functions and Application of Medicinal Plant, Guiyang 550014, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents from the bark of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem and their anti-inflammatory activity. **METHODS** Silica gel, RP-18 reverse phase silica gel and HPLC were used for isolation and purification, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. Their anti-inflammatory activity were evaluated by RAW264.7 model. **RESULTS** Sixteen compounds were isolated and identified as (9Z)-18-hydroxyoctadec-9-en-4, 6-diyn-3-one (**1**), toonapolyne C (**2**), (9S, 10E, 16R)-octadec-10-ene-12, 14-diyne-1, 9, 16-triol (**3**), (9S, 10E, 16R)-9, 16-dihydroxyoctadec-10-ene-12, 14-diyne-1-yl acetate (**4**), toonapolyne A (**5**), toonasindi-yne B (**6**), scopoletin (**7**), sco-parone (**8**), 3-O-acetyl (-)-epicatechin (**9**), *p*-ethoxyacetanilide (**10**), kulonic acid (**11**), β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside (**12**), vanillic acid (**13**), cleomiscosin A (**14**), (-)-isolariciresinol (**15**), resveratrol (**16**). The IC₅₀ values of compounds **3~4**, **6**, **11~13** for NO were 6.90, 10.49, 20.03, 9.49, 18.34, 24.36 μ mol/L, respectively. **CONCLUSION** Compound **1** is a new polyacetylene, **8~16** are isolated from *T. sinensis* for the first time. Compounds **3~4**, **6**, **11~13** have good anti-inflammatory activity.

收稿日期: 2025-01-24

基金项目: 国家自然科学基金 (32160102); 贵州省科技支撑项目 (黔科合支撑 [2022] 重点 019)

作者简介: 吴 苇 (1999—), 女 (穿青人), 硕士生, 从事天然药物化学研究。E-mail: 974947885@qq.com

* 通信作者: 李金玉 (1988—), 女, 博士, 副研究员, 从事中药民族药物物质功效研究。Tel: 15887213252, E-mail: lijinyu2008@126.com

潘卫东 (1975—), 男, 博士, 教授, 从事天然药物化学研究。Tel: 18985130307, E-mail: wdpan@163.com

KEY WORDS: *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem.; bark; polyacetylene; chemical constituents; isolation and identification; anti-inflammatory activity

香椿 *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. 为楝科香椿属落叶乔木,是一种常用的药食两用植物,在我国已有2 000多年的栽培历史,主要分布于黄河至长江流域,以贵州、云南、山东、河南等省份种植较多^[1]。香椿的药用部位主要为叶、皮和果实,《日华子诸家本草》指出香椿树皮具有除热、止血、杀虫作用;香椿叶具消炎、解毒、杀虫等功效;香椿子可祛风、散寒、止痛。中医认为,香椿味苦、涩,性温,具有祛风利湿、止血止痛、抗炎等功效^[2]。目前,已从香椿的枝叶、果实和树皮中分离鉴定出100多种化学成分,包括柠檬苦素类三萜^[3]、甾体类、苯丙素类和黄酮类,具有抗肿瘤^[4]、抗氧化^[5]、抗炎^[6]、护肝^[7]等多种药理活性,但关于黔产香椿树皮的研究尚不全面。

课题组长期致力于楝科植物的研究,已经从川楝^[8]、毛红椿^[9]、望谟崖摩^[10]等植物中发现大量的活性天然产物。为进一步研究楝科植物香椿的化学成分,寻找具有生物活性及药用价值的天然产物,合理开发利用黔产香椿资源,本研究对香椿树皮乙酸乙酯部位进行分离纯化,并建立脂多糖诱导的RAW 264.7巨噬细胞炎症模型,评价其抗炎活性。

1 材料

AVANCE NEO 400核磁共振仪(德国Bruker公司);PerkinElmer Spectrum 2红外光谱仪(美国珀金埃尔默公司);Agilent 1100高效液相色谱仪(美国Agilent公司);YMC半制备色谱柱(10 mm×250 mm, 5 μm)(日本YMC株式会社)。甲醇、乙腈(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);其他有机溶剂均为分析纯(贵州四面体化工有限公司)。

RAW264.7细胞株(苏州海星生物科技有限公司);吡喹啉美辛(上海源叶生物科技有限公司)。

香椿样品于2019年采自贵州省兴义市,由贵州黔西南喀斯特区域发展研究院的邓朝义教授鉴定为楝科香椿属植物香椿 *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem. 的树皮,凭证标本(编号TSJ2019095)保存于贵州省天然产物研究中心。

2 提取与分离

取香椿树皮样品19 kg,粉碎,用95%乙醇加热回流提取2次,每次2 h,合并提取液减压浓缩

得到总浸膏。总浸膏加水混悬,乙酸乙酯萃取7次,得乙酸乙酯部位(1 684.7 g)。乙酸乙酯部位经硅胶柱初步分离,以石油醚-乙酸乙酯(50:1~1:1)、二氯甲烷-甲醇(30:1~5:1)梯度洗脱,每流分2 L,浓缩后用TLC展开,紫外灯下检视并结合硫酸乙醇显色剂显色结果,合并相似组分,得到Fr. A~Fr. J。

Fr. D(18 g)经RP-18反相硅胶柱(流动相40%~100%甲醇)分离,得到Fr. D1~Fr. D8。Fr. D5经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(40:1~10:1)梯度洗脱,得5个组分(Fr. D5-1~Fr. D5-5),Fr. D5-3经半制备HPLC分离,得到Fr. D5-3-1~Fr. D5-3-5,其中Fr. D5-3-4经半制备HPLC(流动相乙腈-水62:38)纯化,得到化合物4(13 mg, $t_R=19$ min);Fr. D5-3-5经半制备HPLC(流动相乙腈-水50:50)纯化,得到化合物1(5.2 mg, $t_R=18$ min)和Fr. D5-3-5-1~Fr. D5-3-5-2,Fr. D5-3-5-1经半制备HPLC(流动相乙腈-水60:40)纯化,得化合物5(12.3 mg, $t_R=19$ min);Fr. D5-3-5-2经半制备HPLC(流动相乙腈-水70:30)纯化,得到化合物2(9.0 mg, $t_R=22.5$ min)。

Fr. E(26.8 g)经RP-18反相硅胶柱(流动相40%~100%甲醇)洗脱,得到Fr. E1~Fr. E15。Fr. E3经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(40:1~10:1)梯度洗脱,得7个组分(Fr. E3-1~Fr. E3-7),Fr. E3-3经Sephadex LH-20(流动相二氯甲烷-甲醇1:1)分离,得到化合物13(8.5 mg);Fr. E3-4经半制备HPLC(甲醇-水42:58)纯化,得化合物7(26.6 mg, $t_R=18$ min)。Fr. E5经硅胶柱分离,以石油醚-乙酸乙酯(5:1~1:1)梯度洗脱,得Fr. E5-2,Fr. E5-2经Sephadex LH-20分离,得化合物10(7.7 mg)、16(7.1 mg)。Fr. E6经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(40:1~10:1)梯度洗脱,得Fr. E6-1~Fr. E6-9,Fr. E6-7经Sephadex LH-20分离,得到Fr. E6-7-1~Fr. E6-7-2,Fr. E6-7-1经半制备HPLC(流动相甲醇-水50:50)纯化,得到化合物3(27.4 mg, $t_R=15$ min)和6(6.4 mg, $t_R=18.5$ min);Fr. E6-7-2经半制备HPLC(流动相甲醇-水47:53)纯化,得到化合物9(8.1 mg, $t_R=21$ min)。Fr. E6-8经反复重结晶,得到化合物14(4.9 mg)。Fr. E7经硅胶柱分

离,以石油醚-乙酸乙酯(10:1~1:1)梯度洗脱,得到化合物**8**(11.3 mg)。Fr. E13析出结晶,得到化合物**11**(11.1 mg)。

Fr. F(16.48 g)经RP-18反相硅胶柱(流动相40%~100%甲醇)洗脱,得到Fr. F1~Fr. F9。Fr. F3经硅胶柱分离,以石油醚-乙酸乙酯(10:1~2:1)梯度洗脱,得12个组分(Fr. F3-1~Fr. F3-12),Fr. F3-6经半制备HPLC(流动相甲醇-水32:68)纯化,得化合物**15**(16.1 mg, $t_R=16$ min)。

Fr. G(3.16 g)有白色不溶物析出,经洗涤后得到化合物**12**(5.7 mg)。半制备HPLC的体积流量均为2 mL/min,检测波长均为254 nm。

3 结构鉴定

化合物**1**:淡黄色油状,HR-ESI-MS显示准分子离子峰 $[M+Na]^+$ 为 m/z 297.181 3,计算值为297.182 5,分子式为 $C_{18}H_{26}O_2$,不饱和度为5。IR吸收峰提示可能含有羟基($3\ 306\ cm^{-1}$)、炔基($2\ 233.24\ cm^{-1}$)和羰基($1\ 673\ cm^{-1}$)。 1H -NMR谱数据(表1)显示出1个三重峰甲基信号 $[\delta: 1.14(3H, t, J=7.4\ Hz, H-1)]$,一组双键信号

$[\delta: 5.38(1H, m, H-9), 5.55(1H, m, H-10)]$ 和多个脂肪族亚甲基。分析其 ^{13}C -NMR谱(表1)、HSQC谱和NOESY谱图(图1)发现,化合物**1**含有18个碳信号,包括1个羰基碳信号($\delta: 187.9$),4个 sp 杂化炔基碳信号($\delta: 76.2, 72.5, 63.7, 88.3$),2个 sp^2 杂化次甲基碳信号($\delta: 120.9, 134.0$),10个亚甲基碳信号,其中包括1个含氧亚甲基($\delta: 63.2$)和1个甲基碳信号($\delta: 8.1$)。

经过与文献数据仔细对比,发现化合物**1**与同时分离得到的已知化合物toonapolyne C(**2**)^[11]结构非常相似,差别主要是化合物**2**的C-3位羟基被羰基取代。在HMBC谱中,H-1($\delta: 1.14$)和H-2($\delta: 2.59$)与C-3($\delta: 187.86$)的相关信号证实了以上推测。根据NOESY谱图中 $\delta: 3.11(2H, m, H-8)$ 与 $\delta: 2.03(2H, m, H-11)$ 2个氢信号相关,推测出H-9和H-10的双键构型为顺式构型。综上所述,确定了化合物**1**的平面结构,经Scifinder数据库检索为新化合物,并将其命名为(9Z)-18-hydroxyoctadec-9-en-4,6-diyn-3-one。

表1 化合物**1**的 1H -NMR、 ^{13}C -NMR数据(400/100 MHz, $CDCl_3$)

Tab. 1 1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound **1** (400/100 MHz, $CDCl_3$)

序号	δ_H	δ_C	序号	δ_H	δ_C
1	1.14 (3H, t, $J=7.4$ Hz)	8.1	10	5.55 (1H, m)	134.0
2	2.59 (2H, q, $J=7.4$ Hz)	38.9	11	2.03 (2H, dq, $J=7.3, 6.8, 2.0$ Hz)	27.4
3	-	187.9	12	1.31 (2H, m)	29.3
4	-	76.2	13	1.31 (2H, m)	29.3
5	-	72.5	14	1.31 (2H, m)	29.6
6	-	63.7	15	1.31 (2H, m)	29.5
7	-	88.3	16	1.31 (2H, m)	25.9
8	3.11 (2H, m)	18.2	17	1.57 (2H, m)	32.9
9	5.38 (1H, m)	120.9	18	3.64 (2H, t, $J=6.6$ Hz)	63.2

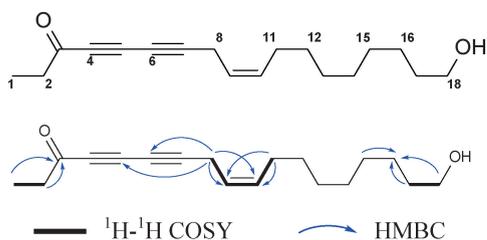


图1 化合物**1**的结构及关键 1H - 1H COSY、HMBC相关
Fig.1 Structure and key 1H - 1H COSY, HMBC correlations of compound **1**

化合物**2**:黄色油状,ESI-MS m/z : 299.2 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.47 (1H, dd, $J=12.3, 5.4$ Hz, H-10), 5.40~5.32

(1H, m, H-9), 4.31 (1H, t, $J=6.6$ Hz, H-3), 3.61 (2H, t, $J=6.7$ Hz, H-18), 3.00 (1H, brd, $J=7.0$ Hz, H-8), 2.01 (2H, q, $J=7.1$ Hz, H-11), 1.69 (2H, m, H-2), 1.52 (2H, m, H-17), 1.31 (10H, m, H-12~16), 0.98 (3H, t, $J=7.4$ Hz, H-1); ^{13}C -NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ : 133.0 (C-10), 122.2 (C-9), 79.3 (C-7), 77.1 (C-4), 69.7 (C-5), 64.3 (C-6), 63.9 (C-3), 63.0 (C-18), 32.8 (C-17), 30.8 (C-2), 29.5 (C-14), 29.4 (C-15), 29.2 (C-12), 29.0 (C-13), 27.1 (C-11), 25.8 (C-16), 17.7 (C-8), 9.5 (C-1)。以上数据与文献[11]报道基本一致,故鉴定为toonapolyne C。

化合物 3: 黄色油状, ESI-MS m/z : 315.2 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.31 (1H, dd, $J=15.9, 5.7$ Hz, H-10), 5.75 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-11), 4.40 (1H, t, $J=9.2$ Hz, H-16), 4.18 (1H, dd, $J=12.4, 6.4$ Hz, H-9), 3.63 (2H, t, $J=6.6$ Hz, H-1), 1.73 (2H, m, H-17), 1.54~1.58 (2H, m, H-2), 1.51~1.55 (2H, m, H-8), 1.30~1.33 (10H, m, H-3~7), 1.01 (3H, t, $J=3.6$ Hz, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 149.8 (C-10), 108.3 (C-11), 83.2 (C-15), 77.0 (C-12), 73.9 (C-13), 72.1 (C-9), 69.6 (C-14), 64.3 (C-16), 63.2 (C-1), 36.9 (C-8), 32.8 (C-2), 30.8 (C-17), 29.5 (C-3), 29.5 (C-4), 29.4 (C-5), 25.8 (C-6), 25.3 (C-7), 9.5 (C-18)。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定为 (9*S*, 10*E*, 16*R*)-octadec-10-ene-12, 14-diyne-1, 9, 16-triol。

化合物 4: 黄色油状, ESI-MS m/z : 357.2 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.31 (1H, dd, $J=15.9, 5.6$ Hz, H-10), 5.75 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-11), 4.41 (1H, t, $J=9.1$ Hz, H-16), 4.22~4.14 (1H, m, H-9), 4.04 (2H, t, $J=6.7$ Hz, H-1), 2.04 (3H, s, COCH₃), 1.75 (3H, m, H-17), 1.61 (2H, dd, $J=6.8, 13.5$ Hz, H-2), 1.52 (2H, t, $J=6.8$ Hz, H-8), 1.31 (10H, m, H-3~7), 1.01 (3H, t, $J=3.8$ Hz, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 171.5 (COCH₃), 149.8 (C-10), 108.3 (C-11), 83.1 (C-15), 76.9 (C-12), 73.9 (C-13), 72.1 (C-9), 69.6 (C-14), 64.8 (C-1), 64.3 (C-16), 36.9 (C-8), 30.8 (C-17), 29.5 (C-5), 29.2 (C-6), 28.7 (C-2), 25.9 (C-3), 25.2 (C-8), 21.2 (COCH₃), 9.5 (C-18)。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定为 (9*S*, 10*E*, 16*R*)-9, 16-dihydroxyoctadec-10-ene-12, 14-diyne-1-ylacetate。

化合物 5: 黄色油状, ESI-MS m/z : 331.2 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.24 (1H, dd, $J=16.0, 7.3$ Hz, H-9), 5.79 (1H, d, $J=16.0$ Hz, H-8), 4.33 (1H, t, $J=6.5$ Hz, H-3), 4.29 (1H, q, $J=6.7$ Hz, H-10), 3.54 (2H, t, $J=6.6$ Hz, H-18), 1.76 (2H, m, H-2), 1.69 (1H, m, H-17), 1.31~1.34 (10H, m, H-12~16), 1.00 (3H, t, $J=7.4$ Hz, H-1); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 148.2 (C-9), 111.7 (C-8), 86.3 (C-

10), 84.8 (C-4), 77.0 (C-7), 74.6 (C-6), 69.4 (C-5), 64.5 (C-3), 63.0 (C-18), 33.6 (C-17), 33.5 (C-11), 31.8 (C-2), 30.6 (C-13), 30.5 (C-14), 30.5 (C-15), 26.9 (C-16), 26.3 (C-12), 9.8 (C-1)。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为 toonapolyne A。

化合物 6: 黄色油状, ESI-MS m/z : 315.2 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.05 (1H, dd, $J=11.0, 8.6$ Hz, H-9), 5.58 (1H, d, $J=11.0$ Hz, H-8), 4.65 (1H, dt, $J=9.0, 7.1$ Hz, H-10), 4.42 (1H, t, $J=6.5$ Hz, H-3), 3.65 (2H, t, $J=6.6$ Hz, H-18), 1.82~1.70 (2H, m, H-2), 1.56 (4H, m, H-11, 17), 1.31~1.33 (10H, m, H-12~16), 1.02 (3H, t, $J=7.4$ Hz, H-1); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 149.7 (C-9), 108.6 (C-8), 84.7 (C-4), 78.5 (C-6), 74.5 (C-7), 70.3 (C-10), 69.2 (C-5), 64.2 (C-3), 63.2 (C-18), 36.5 (C-11), 32.8 (C-17), 30.8 (C-2), 29.4 (C-13), 29.4 (C-14), 29.3 (C-15), 25.7 (C-16), 25.0 (C-12), 9.6 (C-1)。以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定为 toonasindiyne B。

化合物 7: 白色固体, ESI-MS m/z : 215.0 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.84 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 7.09 (1H, s, H-5), 6.75 (1H, s, H-8), 6.19 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 3.90 (3H, s, 6-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 164.1 (C-2), 153.0 (C-7), 147.1 (C-9), 146.5 (C-4), 146.1 (C-6), 112.5 (C-5), 112.5 (C-10), 109.9 (C-3), 104.0 (C-8), 56.2 (6-OCH₃)。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为东莨菪内酯。

化合物 8: 白色晶体, ESI-MS m/z : 229.0 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.65 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 6.85 (1H, s, H-5), 6.83 (1H, s, H-8), 6.27 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-3), 3.94 (3H, s, 6-OCH₃), 3.91 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 161.2 (C-2), 152.7 (C-7), 149.8 (C-9), 146.2 (C-6), 143.1 (C-4), 113.3 (C-10), 111.2 (C-3), 107.8 (C-5), 99.8 (C-8), 56.2 (6-OCH₃), 56.2 (7-OCH₃)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 6, 7-二甲氧基香豆素。

化合物 9: 黄色油状, ESI-MS m/z : 355.1

[M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.99 (1H, s, 5-OH), 9.86 (1H, s, 7-OH), 8.91 (1H, s, 4'-OH), 8.90 (1H, s, 3'-OH), 6.70 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-5'), 6.68 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2'), 6.57 (1H, dd, *J*=2.0, 8.1 Hz, H-6'), 6.25 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-6), 5.91 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 4.74 (1H, d, *J*=6.5 Hz, H-2), 3.92 (1H, m, H-3), 2.60 (1H, dd, *J*=16.2, 5.2 Hz, H-4a), 2.44 (1H, dd, *J*=16.2, 7.0 Hz, H-4b), 1.32 (3H, s, CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 170.2 (C-4), 160.0 (C-7), 145.1 (C-4'), 145.0 (C-3'), 129.7 (C-7'), 117.9 (C-6'), 115.3 (C-5'), 114.1 (C-2'), 100.0 (C-4a), 95.0 (C-8), 94.7 (C-6), 81.4 (C-2), 65.4 (C-3), 26.2 (C-4), 14.2 (CH₃)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为 3-*O*-acetyl (-)-epicatechin。

化合物 10: 白色固体, ESI-MS *m/z*: 202.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.37 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-2), 6.81 (2H, d, *J*=9.0 Hz, H-3), 4.00 (2H, q, *J*=7.0 Hz, -OCH₂-), 2.15 (3H, s, -OCH₃), 1.40 (3H, t, *J*=7.0 Hz, -CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 168.3 (-CO-), 156.0 (C-4), 130.9 (C-1), 122.0 (C-2), 114.9 (C-3), 63.8 (-OCH₂CH₃), 24.5 (-OCH₃), 15.0 (-OCH₂CH₃)。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为对乙氧基乙酰苯胺。

化合物 11: 白色晶体, ESI-MS *m/z*: 493.3 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.29 (1H, m, H-7), 5.07 (1H, t, *J*=6.9 Hz, H-24), 4.10 (1H, t, *J*=6.7 Hz, H-24), 2.26 (1H, m, H-9), 1.67 (3H, s, H-26), 1.58 (3H, s, H-27), 1.24 (3H, s, H-30), 1.11 (3H, s, H-29), 1.03 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 217.0 (C-3), 180.4 (C-21), 144.8 (C-8), 132.4 (C-25), 123.6 (C-24), 118.6 (C-7), 58.3 (C-17), 52.4 (C-5), 49.8 (C-14), 48.0 (C-14), 47.9 (C-9), 47.8 (C-4), 47.2 (C-13), 45.3 (C-15), 45.1 (C-20), 38.5 (C-1), 35.1 (C-10), 34.9 (C-2), 33.3 (C-12), 30.7 (C-22), 28.0 (C-30), 26.1 (C-23), 25.8 (C-23), 24.6 (C-18), 24.4 (C-28), 23.2 (C-29), 23.1 (C-6), 21.6 (C-27), 18.1 (C-11), 17.8 (C-26), 12.8 (C-19)。以上数

据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定为苦楝酸。

化合物 12: 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 599.4 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 5.32 (2H, m, H-6), 4.22 (1H, d, *J*=6.5 Hz, H-1'), 3.64 (1H, m, H-6'b), 3.47 (1H, m, H-3), 3.44 (1H, m, H-6'a), 3.17 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-3'), 3.10 (1H, m, H-5'), 3.06 (1H, m, H-4'), 2.89 (1H, t, *J*=7.0 Hz, H-2'), 2.12 (1H, m, H-20), 1.94 (2H, m, H-4), 1.82 (4H, m, H-15~16), 1.80 (2H, m, H-7), 1.69 (1H, m, H-27), 1.50 (6H, m, H-8~9, 11~12), 1.50 (4H, m, H-24, 26), 1.39 (2H, m, H-2), 1.23 (4H, m, H-1, 17), 1.15 (2H, m, H-25), 1.15 (1H, m, H-14), 0.99 (3H, d, *J*=6.9 Hz, H-29), 0.95 (3H, d, *J*=6.4 Hz, H-21), 0.90 (3H, d, *J*=6.3 Hz, H-21), 0.81 (3H, s, H-18), 0.65 (3H, m, H-18)。¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 140.5 (C-5), 121.3 (C-6), 100.8 (C-1'), 76.9 (C-3), 76.8 (C-3'), 76.6 (C-5'), 73.5 (C-2'), 70.1 (C-4'), 61.1 (C-6'), 56.2 (C-14), 55.5 (C-17), 49.6 (C-24), 49.3 (C-9), 41.9 (C-4, C-13), 38.3 (C-20), 36.9 (C-12), 36.2 (C-1), 35.5 (C-10), 33.4 (C-22), 31.5 (C-2, 7), 31.4 (C-8), 29.3 (C-25), 28.7 (C-16), 27.8 (C-23), 23.9 (C-28), 22.6 (C-15), 20.6 (C-21), 19.8 (C-26), 19.1 (C-11), 19.0 (C-27), 18.6 (C-19), 11.8 (C-29), 11.7 (C-18)。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定为 β-谷甾醇-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

化合物 13: 白色固体, ESI-MS *m/z*: 191.0 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.55 (1H, m, H-6), 7.52 (1H, m, H-2), 6.83 (1H, d, *J*=8.7 Hz, H-5), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 170.4 (C-7), 152.5 (C-4), 148.6 (C-3), 125.2 (C-6), 123.5 (C-1), 115.8 (C-2), 113.8 (C-5), 56.4 (3-OCH₃)。以上数据与文献 [20] 报道基本一致, 故鉴定为香草酸。

化合物 14: 白色固体, ESI-MS *m/z*: 409.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.96 (1H, d, *J*=9.5 Hz, H-4), 7.03 (1H, d, *J*=2.1 Hz, H-2'), 6.91 (1H, s, H-5), 6.88 (1H, m, H-6'), 6.82 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.34 (1H, d, *J*=9.5 Hz, H-3), 4.99 (1H, d, *J*=7.9 Hz, H-

7'), 4.32 (1H, m, H-8'), 3.78 (1H, m, H-9'a), 3.40 (1H, m, H-9'b), 3.82 (1H, s, -OCH₃), 3.79 (1H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 160.0 (C-2), 147.6 (C-3'), 147.3 (C-4'), 145.3 (C-6), 144.9 (C-4), 138.1 (C-9), 137.1 (C-7), 131.7 (C-8), 126.7 (C-1'), 120.8 (C-6'), 115.4 (C-5'), 113.2 (C-3), 112.0 (C-2'), 111.3 (C-10), 100.8 (C-5), 77.9 (C-7'), 76.3 (C-8'), 59.9 (C-9'), 55.8 (3'-OCH₃), 55.7 (6-OCH₃)。以上数据与文献 [21] 报道基本一致, 故鉴定为臭矢菜素 A。

化合物 15: 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 383.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 6.70 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-5'), 6.64 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-2'), 6.61 (1H, s, H-6), 6.57 (1H, dd, *J*=8.0, 1.9 Hz, H-6'), 6.15 (1H, s, H-3), 3.78 (1H, d, *J*=11.9 Hz, H-7'), 3.76 (3H, s, 5-OCH₃), 3.73 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.69~3.63 (2H, m, H-9'a), 3.63~3.60 (1H, m, H-9), 3.36 (1H, dd, *J*=11.2, 4.1 Hz, H-9'b), 2.74 (2H, d, *J*=7.7 Hz, H-7), 1.96 (1H, m, H-8), 1.73 (1H, m, H-8'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 149.0 (C-3), 147.2 (C-5), 145.9 (C-4), 145.2 (C-4), 138.6 (C-2), 134.1 (C-1), 129.0 (C-1), 123.2 (C-6), 117.3 (C-5), 116.0 (C-3), 113.7 (C-2), 112.3 (C-6), 65.9 (C-9), 62.2 (C-9), 56.4 (3-OCH₃), 56.3 (3-OCH₃), 48.0 (C-7), 48.0 (C-8), 40.0 (C-8), 33.6 (C-7)。以上数据与文献 [22] 报道基本一致, 故鉴定为 (-)-异落叶松树脂酚。

化合物 16: 白色晶体, ESI-MS *m/z*: 251.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.35 (2H, m, H-2', 6'), 6.96 (1H, d, *J*=16.3 Hz, H-α), 6.83 (1H, d, *J*=16.3 Hz, H-β), 6.77 (2H, d, *J*=8.6 Hz, H-3', 5'), 6.45 (2H, d, *J*=2.2 Hz, H-2, 6), 6.16 (1H, t, *J*=2.2 Hz, H-4)。¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 159.7 (C-3, 5), 158.4 (C-4'), 141.3 (C-1), 130.4 (C-1'), 129.4 (C-β), 128.8 (C-2', 6'), 127.0 (C-α), 116.5 (C-3', 5'), 105.8 (C-6), 102.6 (C-4)。以上数据与文献 [23] 报道基本一致, 故鉴定为白藜芦醇。

4 抗炎活性研究

4.1 细胞毒性测定 取对数生长期的 RAW 264.7 细胞, 稀释至密度为 1×10⁵/mL, 接种于 96 孔板,

每孔 90 μL, 培养 24 h^[24]。设置空白组、模型组和给药组, 每组设置 3 个复孔。

化合物用 DMSO 配制成 100 mmol/L 的溶液, 再用培养基稀释至 500 μmol/L, 每孔加入 10 μL, 孵育 2 h 后, 每孔加入 10 μL LPS (10 μg/mL), 培养 24 h 后, 每孔加入 10 μL MTT 试剂, 继续培养 4 h, 弃上清液, 加入 150 μL DMSO, 测定光密度 (OD) 值, 计算细胞存活率, 公式为细胞存活率 = [(OD 给药组 - OD 空白组) / (OD 无药组 - OD 空白组)] × 100%。结果显示, 给药组的细胞存活率均高于 75%。

4.2 抗炎活性测定 化合物用 DMSO 配制成 100 mmol/L 的溶液, 再用培养基稀释至 200 μmol/L, 每孔加入 10 μL, 孵育 2 h 后, 每孔加入 10 μL LPS (10 μg/mL), 继续培养 24 h。每孔吸取 50 μL 上清液, 分别加入 Griess 试剂 I、试剂 II 各 50 μL, 用酶标仪在 540 nm 波长处测定 OD 值, 计算 NO 抑制率, 公式为 NO 抑制率 = [1 - (给药组 NO 浓度) / LPS 组 NO 浓度] × 100%。对抑制率大于 40% 的化合物, 设置 6 个不同浓度, 计算半数抑制浓度 (IC₅₀), 实验重复 3 次。以吲哚美辛为阳性对照。结果表明, 在 20 μmol/L 的给药浓度下, 化合物 3~4、6、11~13 能较好抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 NO 的生成, 具有良好的抗炎作用, 见表 2。

表 2 各化合物 IC₅₀ 值 ($\bar{x} \pm s$, *n*=3)

Tab. 2 IC₅₀ values of various compounds ($\bar{x} \pm s$, *n*=3)

化合物	IC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)
3	6.90±0.59**
4	10.49±0.32**
6	20.03±1.30**
11	9.49±0.29**
12	18.34±0.64**
13	24.37±2.86
吲哚美辛	28.82±2.81

注: 与吲哚美辛比较, ** *P*<0.01。

5 讨论

本研究对香椿树皮乙醇提取物的乙酸乙酯部位进行化学成分研究, 从中分离得到 16 个化合物, 包括 6 个聚乙炔类、2 个香豆素类、2 个苯丙素类、2 个酚类及 4 个其他类, 其中化合物 1 为一个新的聚乙炔类化合物。此外, 本实验采用 MTT 法评估细胞毒性, 并通过建立 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞炎症模型, 对得到的 16 个单体化合物进行了抗炎活性测试, 发现在 50 μmol/L 的浓度下, 各化合物的细胞存活率均高于 75%, 在 20 μmol/L 的给药

浓度下, 化合物 **3~4**、**6**、**11~13** 具有良好的抗炎作用。本研究结果丰富了香椿化学成分多样性, 可为探寻香椿树皮中潜在的抗炎活性成分及其后续的开发利用提供参考依据。

参考文献:

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 顾芹英. 中药香椿叶化学成分的分离与分析[D]. 镇江: 江苏大学, 2016.
- [3] Li Q R, Tang P F, Zhang P P, *et al.* Inhibition of the P2X7/NLRP3 inflammasome signaling pathway by deacetylatedunin from *Toona sinensis*[J]. *J Nat Prod*, 2022, 85 (5): 1388-1397.
- [4] Li J H, Li Y, An F L, *et al.* Limonoids with modified furan rings from root barks of *Toona sinensis*[J]. *Tetrahedron*, 2016, 72(47): 7481-7487.
- [5] Wang Y X, Gu D Y, Liu C, *et al.* Enrichment, analysis, identification and mechanism of antioxidant components in *Toona sinensis*[J]. *Chin J of Anal Chem*, 2022, 51(9): 100198.
- [6] Chen C H, Li C J, Tai I C, *et al.* The fractionated *Toona sinensis* leaf extract induces apoptosis of human osteosarcoma cells and inhibits tumor growth in a murine xenograft model[J]. *Integr Cancer Ther*, 2017, 16(3): 397-405.
- [7] Cao J J, Lv Q Q, Zhang B, *et al.* Structural characterization and hepatoprotective activities of polysaccharides from the leaves of *Toona sinensis* (A. Juss) Roem[J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 212: 89-101.
- [8] Shao L L, Lin K Q, Liu H F, *et al.* Meliasanines A-L, tirucallane-type triterpenoids from *Melia toosendan* with anti-inflammatory properties via NF- κ B signaling pathway[J]. *Phytochemistry*, 2024, 225: 114192.
- [9] 杜丽波, 李金玉, 张 晓, 等. 毛红椿皮的化学成分及生物活性研究[J]. 广西师范大学学报 (自然科学版), 2022, 40(4): 162-172.
- [10] Dong J J, Liu H Y, Wang H, *et al.* Bioactivities of steroids and sesquiterpenes from the branches and leaves of *Aglaia lawii*[J]. *Molecules*, 2023, 29(1): 39.
- [11] Wang R, Ni F Q, Sang J, *et al.* Toonapolyynes A-D, new polyynes from *Toona ciliata*[J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(7): 935-942.
- [12] Ning J, Di Y T, Li S F, *et al.* Polyynes from *Toona ciliata* var. *ciliata* and related cytotoxic activity[J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2011, 94(3): 376-381.
- [13] Xu W J, Li J H, Zhou M M, *et al.* Toonasindiyne A-F, new polyacetylenes from *Toona sinensis* with cytotoxic and anti-inflammatory activities[J]. *Fitoterapia*, 2020, 146: 104667.
- [14] 刘娟娟, 张靖柯, 李 孟, 等. 月见草化学成分的研究[J]. 中药材, 2022, 45(9): 2122-2127.
- [15] Fu X X, Xiao S L, Cao D T, *et al.* Antifungal active ingredient from the twigs and leaves of *Clausena lansium* Lour. Skeels (Rutaceae) [J]. *Front Chem*, 2022, 10: 1104805.
- [16] 杨 全, 程轩轩, 郭楚楚, 等. 广金钱草种子的化学成分和 DPPH 自由基清除活性研究[J]. 中草药, 2015, 46(17): 2517-2521.
- [17] 梅 青, 廖尚高, 周翠琼, 等. 苗药消疤草抗肝纤维化活性成分研究[J]. 中药材, 2019, 42(8): 1801-1805.
- [18] Zhang S N, Huang L, Ma R J, *et al.* Chemical constituents from the barks of *Melia azedarach* and their PTP1B inhibitory activity[J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(22): 4442-4447.
- [19] Happi G M, Yimchui M T, Ahmed S A, *et al.* Chemical constituents from *Uapaca guineensis* (Phyllanthaceae), and the computational validation of their antileishmanial and anti-inflammatory potencies[J]. *J Chem*, 2022, 2022: 7087110.
- [20] Xia G Q, Zhao G S, Pei S C, *et al.* Isolation and identification of active ingredients and biological activity of *Dioscorea nipponica* Makino[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 240.
- [21] Yan Z Y, Chen J J, Duan Z K, *et al.* Racemic phenylpropanoids from the root barks of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle with cytotoxicity against hepatoma cells[J]. *Fitoterapia*, 2018, 130, 234-240.
- [22] 江 程, 顾 琼. 黑面神乙酸乙酯部位化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(6): 987-995.
- [23] 周媛媛, 张雪柔, 孙 朝, 等. 核桃青皮小分子酸性成分研究[J]. 中成药, 2023, 45(5): 1528-1531.
- [24] 王冬雨, 张 妮, 娄华勇, 等. 黔产草珊瑚中 1 个新的木脂素化合物及其抗神经炎症活性[J]. 中草药, 2024, 55(22): 7575-7582.