

# 华南吴萸的化学成分及抗炎活性研究

李 燕<sup>1</sup>, 许耀军<sup>1</sup>, 祖雪丹<sup>1</sup>,

李晓莉<sup>1</sup>, 张芮菡<sup>1</sup>, 张兴杰<sup>1</sup>, 肖伟烈<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>云南大学 教育部自然资源药物化学重点实验室; 云南省天然产物转化与应用重点实验室; 化学科学与工程学院; <sup>2</sup>云南大学 云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 昆明 650091

**摘 要:** 综合利用各种分离提取技术对芸香科植物华南吴萸的化学成分进行研究, 并利用核磁共振波谱技术进行结构鉴定。共分离纯化鉴定出 13 个化合物, 分别为柠檬苦素 (1)、6 $\alpha$ -乙酰氧基-12 $\alpha$ -羟基吴茱萸内酯醇 (2)、12 $\alpha$ -hydroxyevodol (3)、12 $\alpha$ -羟基柠檬苦素 (4)、臭辣树交酯 A (5)、 $\beta$ -别隐品碱 (6); 瑞特西宁 (7)、野花椒甲素 (8)、bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate (9)、bejolghotin G (10)、lynoiresinol (11)、(-)-(7R,7'R,7''S,8S,8'S,8''S)-4',4''-dihydroxy-3,3',3'',5-tetramethoxy-7,9':7',9'-diepoxy-4,8''-oxy-8,8'-sesquieolignan-7'',9''-diol (12)、3',6-dipropyl apigenin (13)。其中化合物 6、8、9 和 12 为首次从吴茱萸属中分离得到, 其余化合物均为首次从华南吴萸中分离得到。并对其化合物进行乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 释放的抑制率测试, 结果表明, 化合物 13 对 LDH 释放的抑制活性较好, 证明该化合物具有一定的抗炎活性。

**关键词:** 华南吴萸; 化学成分; 结构鉴定; 抗炎活性

中图分类号: R284.1 文献标识码: A

## Study on anti-inflammatory activity chemical constituents of *Euodia austrosinensis* Hand-Mazz

LI Yan<sup>1</sup>, XU Yao-jun<sup>1</sup>, ZU Xue-dan<sup>1</sup>,

LI Xiao-li<sup>1</sup>, ZHANG Rui-han<sup>1</sup>, ZHANG Xing-jie<sup>1</sup>, XIAO Wei-lie<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Medicinal Chemistry for Natural Resource, Ministry of Education; Yunnan Research & Development Center for Natural Products; School of Chemical Science and Technology, Yunnan University; <sup>2</sup>State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Yunnan University, Kunming 650091, China

**Abstract:** The chemical constituents of aerial parts of *Euodia austrosinensis* were studied by various extraction and isolation techniques, and their structures were established on the basis of 1D and 2D NMR spectra. Thirteen compounds were obtained and identified as follows: limonin (1), 6 $\alpha$ -acetoxy-12 $\alpha$ -hydroxyevocorolactone (2), 12 $\alpha$ -hydroxyevodol (3), 12 $\alpha$ -hydroxylimonin (4), graucin A (5),  $\beta$ -allocryptopine (6), rhetsinine (7), wildflowers element (8), bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate (9), bejolghotin G (10), lynoiresinol (11), (-)-(7R,7'R,7''S,8S,8'S,8''S)-4',4''-dihydroxy-3,3',3'',5-tetramethoxy-7,9':7',9'-diepoxy-4,8''-oxy-8,8'-sesquieolignan-7'',9''-diol (12), 3',6-dipropyl apigenin (13). among which compounds 6, 8, 9 and 12 were acquired from the genus *Evodia* for the first time, the other compounds were isolated from this plant for the first time. The inhibition rate of lactate dehydrogenase release of the compounds was tested. The results showed that compounds 13 had good inhibitory activity on LDH release, which indicated that 13 had certain anti-inflammatory activity.

**Key words:** *Euodia austrosinensis* Hand-Mazz; chemical composition; structure identification; anti-inflammatory activity

吴茱萸 (*Euodia rutaecarpa*) 为芸香科、吴茱萸属植物，是一种著名的中药。在传统的东方医学中用于治疗胃肠道疾病、头痛、闭经和产后出血<sup>[1]</sup>，是非常流行的多用途草本植物。在植物化学的研究中，从吴茱萸的果实中发现了多种化合物，包括：柠檬苦素、吴茱萸碱、吴茱萸次碱，以及其他多种生物碱和挥发油成分<sup>[2]</sup>。其中生物碱和柠檬苦素类化合物已被证明有很好的心脑血管活性、抗肿瘤活性以及抗炎镇痛活性<sup>[36]</sup>。华南吴茱萸 (*Euodia austrosinensis* Hand-Mazz)<sup>[7]</sup>同属于吴茱萸属，早期在药材市场上作为一种吴茱萸的混伪品，与吴茱萸有极高的相似性。鉴于从吴茱萸中分离出较多有价值的化合物，而目前有关于华南吴茱萸的化学成分未见报道，因此本研究选取华南吴茱萸的地上枝叶部分进行研究。

吴茱萸的化学成分有很好的抗炎镇痛活性<sup>[8,9]</sup>，为验证华南吴茱萸的化学成分是否也会有相似的活性，故而对化合物进行抗炎活性相关测试。乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 是一种稳定的胞浆酶，存在所有的细胞中。当细胞炎症被激活时，细胞膜表面便会打孔，乳酸脱氢酶通过受损的细胞膜释放到细胞培养液中。因此，检测 LDH 在细胞培养液中的释放水平，便可以表征药物的抗炎能力<sup>[10]</sup>。故而本研究用 LDH 法表征化合物的抗炎活性，以期发现具有抗炎活性的化合物，为炎症性相关疾病的治疗提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器、材料和试剂

核磁共振仪 (NMR) AVANCEIIIHD 400/600 MHz (瑞士 Bruker 公司)；Agilent 1260 高效液相 (HPLC) (美国 Agilent 科技有限公司)；二极管阵列检测器 (DAD) (美国 Agilent 科技有限公司)；Zorbax SB-C<sub>18</sub> (5 μm, 9.4 mm×250 mm) 半制备柱 (美国 Agilent 科技有限公司)；Zorbax SB-C<sub>18</sub> (5 μm, 4.6 mm×250 mm) 分析柱 (美国 Agilent 公司)；正相柱层析用硅胶 80~100、100~200、200~300 目；反相填充材料 Lichroprep RP-18 (40~60 μm)；羟丙基葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20；薄层层析硅胶 (GF254)；厚制备版 (HSGF254)；聚酰胺薄层板；不同目数的柱层析填料硅胶和聚酰胺薄层板均购自青岛海洋化工。活性测试所用实验材料：小鼠单核巨噬细胞株 (J774A.1)；Opti-MEM 培养基 (Thermo Scientific USA, 31985088)；尼日亚菌素 Nigericin (Invivogen USA, t1rl-nig)；乳酸脱氢酶检测试剂盒 (Promega USA, J2381)；胎牛血清 FBS (Thermo Scientific USA; 10091155)；DMEM 培养基 (Gibco, C11995500BT)。

### 1.2 植物样品来源

植物于 2019 年采自云南西双版纳，由中国科学院昆明植物研究所陈渝鉴定为华南吴茱萸

(*Evodia austrosinensis* Hand-Mazz), 标本存放于云南大学教育部自然资源药物化学重点实验室, 标本编号为 XWL2019020。

### 1.3 提取与分离

干燥的华南吴茱萸细枝和叶 (7 kg) 粉碎, 室温下用 95% 甲醇-水溶液 (25 L) 浸泡 24 h, 将提取液减压浓缩得到黑色浸膏 (2 kg), 将其溶解在水溶液中得到水相, 分别用溶剂 PE、EtOAc 萃取得到相应的有机相。将 PE 馏分减压浓缩, 得到褐黑色胶状物 (613.1 g), 将 EtOAc 馏分减压浓缩, 得到褐黑色胶状物 (338.2 g)。取石油醚相萃取物 (FrA) 用大孔树脂层析粗分, 用甲醇-水梯度洗脱 (体积分数 50%、70%、80%、90%), 得 4 个组分 FrA1~4。组分 FrA3 (56.2 g) 以石油醚:乙酸乙酯 (10:1、8:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1) 为洗脱剂, 经薄层色谱检查后合并相同部分, 得 15 个组分 (1~15)。FrA3-14 组分经重结晶得到化合物 **1** (1 000.0 mg)。FrA3-8 组分经过硅胶柱层析和羟丙基葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 分离得到化合物 **8** (8.0 mg)、**3** (5.1 mg)。FrA3-17 组分通过硅胶柱层析纯化得到化合物 **6** (12.6 mg)、**7** (6.1 mg) 和 **9** (30.6 mg); 经分析半制备高效液相色谱用乙腈-水 (3 mL/min, 40:60) 得到化合物 **12** (4.3 mg,  $t_R=8$  min)。组分 FrA2 (45.0 g) 以二氯甲烷-甲醇 (100:1、80:1、60:1、50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、5:1、3:1、1:1) 为洗脱剂, 经薄层色谱检查后合并相同部分, 得 9 个组 (1~9)。组分 FrA2-1 再次经过硅胶柱层析、厚制备板纯化得到化合物 **3** (3.2 mg); 经分析半制备高效液相色谱用乙腈-水 (3 mL/min, 35:65) 得到化合物 **4** (4 000.0 mg,  $t_R=15.5$  min)。组分 FrA2-2 以二氯甲烷-丙酮 (100:1→1:1) 为洗脱剂得到化合物 **2** (12.9 mg)、**5** (12.3 mg)。取乙酸乙酯相萃取物 (FrB) 用大孔树脂层析粗分, 再用甲醇-水梯度洗脱 (体积分数 50%、70%、80%、90%) 得 4 个组分 FrB1~4。组分 FrB2 (34.0 g) 以二氯甲烷-甲醇 (100:1、80:1、60:1、50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、5:1、3:1、1:1) 为洗脱剂, 经薄层色谱检查后合并相同部分, 得 9 个组分 (1~9)。FrB2-3 组分再次分别通过二氯甲烷-丙酮 (100:1→1:1) 和二氯甲烷-甲醇 (100:1→1:1) 硅胶柱层析得到化合物 **11** (9.0 mg); 经分析半制备高效液相色谱用乙腈-水 (3 mL/min, 60:40) 分离得到化合物 **10** (12.8 mg,  $t_R=9$  min)。

### 1.4 LDH 释放抑制率测试

本研究采用 LDH 法<sup>[1]</sup>, 用含 10% 胎牛血清 FBS 的 DMEM 培养基培养 J774A.1 细胞, 在细胞对数生长期将细胞铺在 24 孔板中, 细胞密度为  $1 \times 10^5$  个/孔, 过夜培养细胞之后以 200 ng/mL 的脂多糖 (LPS) 诱导刺激细胞 3 h, 后用待测化合物在工作浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[12]</sup>

下孵育细胞 30 min, 最后用 10  $\mu\text{mol/L}$  尼日亚菌素 (nigericin) 刺激孵育 1 h, 激活后用 LDH 分析试剂盒检测细胞培养液中乳酸脱氢酶 (LDH) 的释放抑制率。将实验分为四组, 分别是正常组 (不加脂多糖 LPS 和尼日亚菌素刺激)、模型组 (加入脂多糖和尼日亚菌素刺激)、阳性对照组 (在模型组中加入 30  $\mu\text{mol/L}$  穿心莲内酯) 和实验组 (在模型组中加入待测化合物), 测试了分离鉴定的化合物在 10  $\mu\text{mol/L}$  浓度下对细胞培养液中 LDH 释放的抑制率。

## 2 实验结果

### 2.1 结构鉴定

**化合物 1** 白色无定型粉末, ESI-MS:  $m/z$  471  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_8$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -82.0 ( $c$  0.05, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.72 (1H, d,  $J$  = 1.6 Hz, H-21), 7.66 (1H, t,  $J$  = 1.8 Hz, H-23), 6.51 (1H, d,  $J$  = 1.9 Hz, H-22), 5.48 (1H, s, H-17), 4.92 (1H, d,  $J$  = 13.0 Hz, H-19b), 4.49 (1H, d,  $J$  = 13.0 Hz, H-19a), 4.11 (1H, d,  $J$  = 3.6 Hz, H-1), 4.11 (1H, br s, H-15), 2.78 (1H, d,  $J$  = 16.3 Hz, H-2b), 2.60 (1H, dd,  $J$  = 7.0, 3.6 Hz, H-9), 2.46 (1H, dd,  $J$  = 15.6, 2.9 Hz, H-6b), 2.29 (1H, dd,  $J$  = 15.4, 2.9 Hz, H-6a), 2.28 (1H, dd,  $J$  = 14.8, 3.1 Hz, H-2a), 2.27 (1H, dd,  $J$  = 15.0, 2.9 Hz, H-5), 1.19 (3H, s, H-28), 1.11 (3H, s, H-29), 1.03 (3H, s, H-18), 1.01 (3H, s, H-30);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 79.0 (C-1), 36.2 (C-2), 170.7 (C-3), 80.0 (C-4), 58.6 (C-5), 36.7 (C-6), 208.5 (C-7), 50.8 (C-8), 47.0 (C-9), 45.8 (C-10), 18.0 (C-11), 29.7 (C-12), 38.1 (C-13), 67.2 (C-14), 54.2, (C-15), 167.8 (C-16), 77.9 (C-17), 20.2 (C-18), 65.3 (C-19), 120.7 (C-20), 142.2 (C-21), 110.7 (C-22), 143.8 (C-23), 30.2 (C-29), 21.9 (C-28), 17.5 (C-30)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>对照一致, 故鉴定化合物 1 为柠檬苦素。

**化合物 2** 白色无定型粉末, ESI-MS:  $m/z$  545  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 分子式为  $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Pyridine- $d_5$ )  $\delta$ : 7.66 (1H, br s, H-23), 7.56 (1H, d,  $J$  = 1.6 Hz, H-21), 6.55 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-22), 5.77 (1H, d,  $J$  = 7.5 Hz, H-6), 5.24 (1H, s, H-17), 5.04 (d,  $J$  = 5.7 Hz, H-12 $\beta$ ), 4.73 (1H, d,  $J$  = 13.0 Hz, H-19b), 4.66 (1H, d,  $J$  = 13.0 Hz, H-19a), 4.33 (1H, d,  $J$  = 3.6 Hz, H-1), 3.34 (1H, s, H-15), 3.09 (1H, d,  $J$  = 10.4 Hz, H-5), 2.82 (1H, d,  $J$  = 12.6 Hz, H-9), 2.66 (1H, dd,  $J$  = 15.7, 3.2 Hz, H-2a), 2.57 (1H, dd,  $J$  = 14.6, 3.5 Hz, H-2b), 2.18 (3H, s, -OAc), 1.33 (3H, s, H-29), 1.28 (3H, s, H-28), 1.27 (3H, s, H-30), 1.22 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, Pyridine- $d_5$ )  $\delta$ : 80.2 (C-1), 36.8 (C-2), 170.7 (C-3), 80.8 (C-4), 55.2 (C-5), 73.6

(C-6), 208.2 (C-7), 51.9 (C-8), 48.8 (C-9), 47.0 (C-10), 30.8 (C-11), 60.7 (C-12), 39.2 (C-13), 67.7 (C-14), 55.2 (C-15), 168.1 (C-16), 78.6 (C-17), 18.4 (C-18), 66.1 (C-19), 121.6 (C-20), 142.4 (C-21), 111.0 (C-22), 144.1 (C-23), 22.4 (C-28), 30.6 (C-29), 18.1 (C-30), 171.0 (C-31), 20.9 (C-32)。上数据与文献<sup>[14]</sup>一致, 故鉴定化合物 **2** 为 6 $\alpha$ -乙酰氧基-12 $\alpha$ -羟基吴茱萸内酯醇。

**化合物 3** 白色无定型粉末, ESI-MS:  $m/z$  501 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>O<sub>10</sub>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -136.4 (c 0.05, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.50 (1H, br s, H-23), 7.26 (1H, d,  $J$  = 1.5 Hz, H-21), 6.35 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-22), 5.43 (1H, s, H-17), 4.71~4.57 (2H, m, H-19), 4.11 (1H, s, H-15), 4.10 (1H, s, H-1), 3.92 (1H, d,  $J$  = 4.9 Hz, H-12 $\beta$ ), 1.56 (3H, s, H-18), 1.50 (3H, s, H-28), 1.26 (3H, d,  $J$  = 5.2 Hz, H-29), 1.10 (3H, s, H-30); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 78.9 (C-1), 34.6 (C-2), 169.3 (C-3), 81.7 (C-4), 139.6 (C-5), 140.0 (C-6), 195.1 (C-7), 48.0 (C-8), 42.1 (C-9), 47.1 (C-10), 31.7 (C-11), 68.0 (C-12), 43.0 (C-13), 64.7 (C-14), 51.2 (C-15), 165.9 (C-16), 76.4 (C-17), 17.7 (C-18), 68.3 (C-19), 119.7 (C-20), 141.4 (C-21), 109.4 (C-22), 144.4 (C-23), 25.8 (C-29), 25.1 (C-28), 13.3 (C-30)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>一致, 故鉴定化合物 **3** 为 12 $\alpha$ -hydroxyevodol。

**化合物 4** 白色无定型粉末, ESI-MS:  $m/z$  487 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>26</sub>H<sub>30</sub>O<sub>9</sub>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -124.5 (c 0.05, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.52 (1H, d,  $J$  = 1.5 Hz, H-21), 7.49 (1H, t,  $J$  = 1.7 Hz, H-23), 6.45 (1H, d,  $J$  = 1.5 Hz, H-22), 5.44 (1H, s, H-17), 4.81 (1H, d,  $J$  = 13.0 Hz, H-19 $\beta$ ), 4.40 (1H, d,  $J$  = 13.1 Hz, H-19 $\alpha$ ), 4.07 (1H, s, H-1), 3.94 (1H, d,  $J$  = 5.3 Hz, H-12 $\beta$ ), 3.78 (1H, s, H-15), 2.98 (1H, dd,  $J$  = 17.0, 3.9 Hz, H-2 $\beta$ ), 2.86 (1H, m, H-2 $\alpha$ ), 2.74 (1H, m, H-5), 2.62 (1H, d,  $J$  = 12.1 Hz, H-6 $\beta$ ), 2.48 (1H, dd,  $J$  = 14.1, 3.2 Hz, H-6 $\alpha$ ), 2.25 (1H, dd,  $J$  = 15.9, 3.3 Hz, H-5), 2.13 (1H, ddd,  $J$  = 14.0, 12.4, 5.5 Hz, H-9), 1.30 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-28), 1.15 (3H, s, H-30), 0.98 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 78.9 (C-1), 35.7 (C-2), 169.6 (C-3), 80.2 (C-4), 61.1 (C-5), 36.4 (C-6), 205.9 (C-7), 52.4 (C-8), 44.9 (C-9), 45.7 (C-10), 30.4 (C-11), 68.5 (C-12), 43.5 (C-13), 64.3 (C-14), 52.1 (C-15), 166.1 (C-16), 76.6 (C-17), 16.7 (C-18), 65.7 (C-19), 119.9 (C-20), 141.5 (C-21), 109.4 (C-22), 144.4 (C-23), 30.1 (C-29), 21.4 (C-28), 13.4 (C-30)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>一致, 故鉴定化合物 **4** 为 12 $\alpha$ -羟基柠檬苦素。

**化合物 5** 白色无定型粉末, ESI-MS:  $m/z$  503  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{26}H_{30}O_{10}$ ;  $[\alpha]_D^{20}$  -36.9 ( $c$  0.05, MeOH);  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.77 (1H, d,  $J$ =1.5 Hz, H-21), 7.66 (1H, t,  $J$ =1.7 Hz, H-23), 6.53 (1H, d,  $J$ =1.9 Hz, H-22), 5.75 (1H, d,  $J$ =4.6 Hz, H-7), 5.51 (1H, s, H-17), 4.85 (1H, d,  $J$ =4.2 Hz, H-12 $\beta$ ), 4.27 (1H, s, H-1), 4.21 (1H, s, H-19 $\beta$ ), 3.93 (1H, s, H-15), 3.91 (1H, s, H-19 $\alpha$ ), 2.96 (1H, dd,  $J$ =15.9, 2.7 Hz, H-2 $\beta$ ), 2.88 (1H, s, H-5), 2.82 (1H, d,  $J$ =12.1 Hz, H-9), 2.58 (1H, dd,  $J$ =15.8, 2.7 Hz, H-2 $\alpha$ ), 1.27 (3H, s, H-18), 1.16 (3H, s, H-28), 1.12 (3H, s, H-29), 0.55 (3H, s, H-30);  $^{13}C$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 82.4 (C-1), 36.4 (C-2), 171.2 (C-3), 81.9 (C-4), 65.1 (C-5), 207.7 (C-6), 82.3 (C-7), 48.5 (C-8), 41.6 (C-9), 46.2 (C-10), 31.6 (C-11), 66.4 (C-12), 43.3 (C-13), 66.3 (C-14), 51.0 (C-15), 167.3 (C-16), 77.5 (C-17), 15.2 (C-18), 70.5 (C-19), 120.3 (C-20), 142.2 (C-21), 111.1 (C-22), 143.6 (C-23), 29.2 (C-29), 24.2 (C-28), 14.6 (C-30)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>一致, 故鉴定化合物 **5** 为臭辣树交酯 A。

**化合物 6** 黄色粉末, ESI-MS:  $m/z$  370  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{21}H_{23}NO_5$ ;  $[\alpha]_D^{20}$  -13.0 ( $c$  0.05, MeOH); 该化合物是在吴茱萸属中首次分离得到。 $^1H$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.95 (1H, s, H-1), 6.91 (1H, d,  $J$ =6.4 Hz, H-11), 6.79 (1H, d,  $J$ =6.6 Hz, H-12), 6.63 (1H, s, H-4), 5.94 (2H, s, OCH<sub>2</sub>O), 3.85 (3H, s, 9-OCH<sub>3</sub>), 3.77 (3H, s, 10-OCH<sub>3</sub>), 3.76 (2H, m, H-8), 3.40 (2H, m, H-13), 2.89~2.27 (4H, m, H-5, H-6), 1.86 (3H, s, N-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$  NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 109.3 (C-1), 146.1 (C-2), 148.1 (C-3), 110.4 (C-4), 135.9 (C-4a), 32.3 (C-5), 57.5 (C-6), 50.2 (C-8), 128.5 (C-8a), 151.6 (C-9), 60.8 (9-OCH<sub>3</sub>), 147.3 (C-10), 55.7 (10-OCH<sub>3</sub>), 110.6 (C-11), 127.7 (C-12), 129.5 (C-12a), 46.2 (C-13), 193.1 (C-14), 132.8 (C-14a), 101.2 (C-15), 41.2 (N-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>一致, 故鉴定化合物 **6** 为 $\beta$ -别隐品碱。

**化合物 7** 黄色粉末, ESI-MS:  $m/z$  320  $[M+H]^+$ , 分子式为  $C_{19}H_{17}N_3O_2$ ;  $[\alpha]_D^{20}$  -12.9 ( $c$  0.05, MeOH);  $^1H$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.63 (1H, d,  $J$ =8.1 Hz, H-19), 7.44 (1H, dd,  $J$ =8.0, 1.6 Hz, H-9), 7.36 (1H, ddd,  $J$ =8.6, 7.0, 1.6 Hz, H-18), 7.30 (1H, m, H-11), 7.26 (1H, s, NH), 7.17 (1H, d,  $J$ =7.6 Hz, H-17), 7.13 (1H, m, H-16), 6.77 (1H, d,  $J$ =8.5 Hz, H-12), 6.52 (1H, t,  $J$ =7.5 Hz, H-10), 4.20 (2H, t,  $J$ =6.5 Hz, H-5), 3.21 (2H, t,  $J$ =6.5 Hz, H-6), 2.95 (3H, d,  $J$ =4.7 Hz, N-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$  NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 124.7 (C-2), 161.8 (C-3), 47.26 (C-5), 20.9 (C-6), 115.6

(C-7), 122.6 (C-8), 114.4 (C-9), 120.5 (C-10/18), 126.0 (C-11), 111.0 (C-12), 138.2 (C-13), 150.8 (C-15), 112.8 (C-16), 134.4 (C-17), 132.2 (C-19), 120.3 (C-20), 175.6 (C-21), 29.7 (N-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>一致, 故鉴定化合物 **7** 为瑞特西宁。

**化合物 8** 黄色油状物, ESI-MS:  $m/z$  263 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>;  $[\alpha]_D^{20}$  -13.5 ( $c$  0.05, MeOH); 该化合物在吴茱萸属中首次被发现。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.33 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-2/6), 6.93 (1H, d,  $J$  = 5.7 Hz, H-2'), 6.85 (2H, d,  $J$  = 8.3 Hz, H-3/5), 6.56 (1H, d,  $J$  = 15.8 Hz, H-7), 6.25 (1H, dt,  $J$  = 15.8, 6.0 Hz, H-8), 4.72 (2H, d,  $J$  = 5.9 Hz, H-1'), 4.31 (2H, d,  $J$  = 5.9 Hz, H-9), 3.76 (3H, s, 6'-OCH<sub>3</sub>), 1.93 (3H, s, 5'-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 130.0 (C-1), 64.9 (C-1'), 127.8 (C-2/6), 136.7 (C-2'), 114.8 (C-3/5), 13.0 (C-5'), 129.9 (C-3'), 158.0 (C-4), 167.7 (C-4'), 52.0 (6'-OCH<sub>3</sub>), 130.8 (C-7), 126.7 (C-8), 63.9 (C-9)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>一致, 故鉴定化合物 **8** 为野花椒甲素。

**化合物 9** 黄色油状物, ESI-MS:  $m/z$  391 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>;  $[\alpha]_D^{20}$  -9.7 ( $c$  0.05, MeOH); 该化合物在吴茱萸属中首次被发现。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.70 (2H, dd,  $J$  = 5.7, 3.3 Hz, H-2/5), 7.52 (2H, dd,  $J$  = 5.7, 3.3 Hz, H-3/4), 4.26~4.17 (4H, m, H-1'/1''), 1.72~1.60 (2H, m, H-2'/2''), 1.38~1.27 (16H, m, H-3'/4'/5'/7'/3''/4''/5''/7''), 0.93 (6H, d,  $J$  = 7.5 Hz, H-6'/6''), 0.89 (6H, d,  $J$  = 3.0 Hz, H-8'/8''); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 132.5 (C-1/6), 167.7 (C=O), 167.7 (C=O), 128.8 (C-2/5), 130.9 (C-3/4), 68.2 (C-1'/1''), 38.8 (C-2'/2''), 30.0 (C-3'/3''), 28.8 (C-4'/4''), 23.0 (C-5'/5''), 11.0 (C-6'/6''), 23.8 (C-7'/7''), 14.0 (C-8'/8'')。以上数据与文献<sup>[19]</sup>一致, 故鉴定化合物 **9** 为 bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate。

**化合物 10** 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  597 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>O<sub>11</sub>;  $[\alpha]_D^{20}$  +30.3 ( $c$  0.05, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.47 (1H, d,  $J$  = 15.9 Hz, H-7''), 7.08 (1H, d,  $J$  = 2.0 Hz, H-6''), 6.95 (1H, dd,  $J$  = 8.2, 2.0 Hz, H-2''), 6.70 (1H, d,  $J$  = 8.2 Hz, H-5''), 6.51 (1H, s, H-2), 6.34~6.28 (1H, m, H-6'), 6.26 (1H, s, H-8''), 4.81 (6H, s, 3/3''-OCH<sub>3</sub>), 3.61 (6H, d,  $J$  = 9.6 Hz, 3'/5'-OCH<sub>3</sub>), 3.24 (3H, d,  $J$  = 2.2 Hz, 5-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 128.6 (C-1), 106.3 (C-2), 147.4 (C-3), 137.4 (C-4), 146.1 (C-5), 58.7 (5-OCH<sub>3</sub>), 124.5 (C-6), 39.3 (C-8), 65.0 (C-9), 137.7 (C-1'), 105.2 (C-2'), 148.0 (C-3'), 133.3 (C-4'), 147.7 (C-5'), 105.2 (C-6'), 41.9 (C-7'), 44.4 (C-8'), 64.7 (C-9'), 126.2 (C-1''), 110.2 (C-2''), 147.7 (C-3''), 149.4 (C-4''),

113.96 (C-5''), 122.9 (C-6''), 145.7 (C-7''), 115.1 (C-8''), 168.0 (C-9''), 55.2 (3-OCH<sub>3</sub>), 55.3 (3'-OCH<sub>3</sub>) 55.1 (3''-OCH<sub>3</sub>), 55.3 (5'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[20]</sup>一致, 故鉴定化合物 **10** 为 bejolghotin G。

**化合物 11** 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  421 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>8</sub>;  $[\alpha]_D^{20}$  -14.2 (*c* 0.05, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.33 (1H, s, H-2), 6.27 (2H, d,  $J$  = 11.6 Hz, H-2'/6'), 3.90 (3H, d,  $J$  = 1.6 Hz, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.85~3.77 (9H, m, 3'/3''/5'-OCH<sub>3</sub>), 3.49 (2H, s, H-9'), 2.75~2.53 (2H, m, H-7), 2.06 (1H, dd,  $J$  = 18.4, 1.6 Hz, H-8'), 1.66 (1H, s, H-8); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 130.8 (C-1), 105.3 (C-2), 146.7 (C-3), 132.7 (C-4), 146.7 (C-5), 124.7 (C-6), 35.4 (C-7), 39.3 (C-8), 67.4 (C-9), 136.9 (C-1'), 105.3 (C-2'), 146.6 (C-3'), 131.2 (C-4'), 146.7 (C-5'), 104.9 (C-6'), 42.8 (C-7'), 47.5 (C-8'), 64.5 (C-9'), 59.7 (5-OCH<sub>3</sub>), 56.4 (3-OCH<sub>3</sub>), 56.2 (3'/5'-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>一致, 故鉴定化合物 **11** 为 lynoiresinol。

**化合物 12** 白色粉末, ESI-MS:  $m/z$  585 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>31</sub>H<sub>36</sub>O<sub>11</sub>;  $[\alpha]_D^{20}$  -5.5 (*c* 0.05, MeOH); 该化合物在吴茱萸属中首次被发现; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.96 (2H, s, H-2'/2''), 6.94 (1H, d,  $J$  = 1.8 Hz, H-6''), 6.91~6.83 (2H, m, H-5'/5''), 6.73 (1H, d,  $J$  = 8.1 Hz, H-6'), 6.62 (2H, d,  $J$  = 3.2 Hz, H-2/6), 5.05~4.96 (1H, m, H-7''), 4.78 (2H, d,  $J$  = 3.9 Hz, H-7/7'), 3.96 (4H, dd,  $J$  = 9.5, 3.2 Hz, H-9a/9b/9'a/9'b), 3.92 (7H, s, 3/5-CH<sub>3</sub>, C-8''), 3.89 (6H, d,  $J$  = 2.0 Hz, 3'/3''-CH<sub>3</sub>), 3.60~3.49 (1H, m, H-9'a), 3.32 (1H, dd,  $J$  = 12.7, 2.6 Hz, H-9'b), 3.11 (4H, s, H-8), 2.95 (2H, q,  $J$  = 7.3 Hz, H-8'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 137.6 (C-1), 102.8 (C-2), 153.5 (C-3), 131.9 (C-4), 153.2 (C-5), 102.8 (C-6), 85.9 (C-7), 54.1 (C-8), 72.6 (C-9), 133.7 (C-1'), 109.8 (C-2') 146.7 (C-3'), 145.5 (C-4'), 114.3 (C-5'), 120.3 (C-6'), 85.7 (C-7'), 54.5 (C-8'), 72.0 (C-9'), 131.3 (C-1''), 108.4 (C-2''), 146.5 (C-3''), 145.4 (C-4''), 114.2 (C-5''), 118.8 (C-6''), 74.1 (C-7''), 89.1 (C-8''), 60.6 (C-9''), 56.7 (3/5-OCH<sub>3</sub>), 56.5 (3'-OCH<sub>3</sub>), 56.0 (5'-OCH<sub>3</sub>), 42.2 (3''/5''-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[22]</sup>一致, 故鉴定化合物 **12** 为 (-)-(7*R*,7'*R*,7''*S*,8*S*,8'*S*,8''*S*)-4',4''-dihydroxy-3,3',3'',5-tetramethoxy-7,9':7',9'-diepoxy-4,8''-oxy-8,8'*s* esquineolignan-7'',9''-diol。

**化合物 13** 黄色粉末, ESI-MS:  $m/z$  355 [M+H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>;  $[\alpha]_D^{20}$  -77.8 (*c* 0.05, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 12.01 (1H, s, -OH-5), 8.34 (1H, dd,  $J$  = 8.0,



1.5 Hz, -OH-4'), 8.25 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, -OH-7), 7.71 (1H, d,  $J=8.6$  Hz, H-5'), 7.38 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-6'), 7.36 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-2'), 6.13 (1H, s, H-3), 6.03 (1H, s, H-8), 2.94~2.84 (2H, m, H-11), 2.81 (2H, dd,  $J=13.5, 6.8$  Hz, H-7'), 1.52 (4H, br s, H-12/8'), 1.04 (6H, t,  $J=7.1$  Hz, H-13/9');  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.5 (C-2), 107.5 (C-3), 187.2 (C-4), 157.2 (C-5), 108.1 (C-6), 163.1 (C-7), 102.1 (C-8), 161.6 (C-9), 116.0 (C-10), 24.6 (C-11/7'), 24.1 (C-12/8'), 14.1 (C-13/9'), 124.0 (C-1'), 128.0 (C-2'), 124.5 (C-3'), 158.2 (C-4'), 128.2 (C-5'), 125.2 (C-6').

通过查阅文献发现该化合物是基于 SAR 分析设计的新化合物<sup>[23]</sup>, 且没有详细的核磁数据报道。但该化合物的骨架信息与文献<sup>[24]</sup>报道的 apigenin 结构数据大部分相似, 因此确定该化合物为黄酮类化合物 apigenin 的衍生物。本研究首次结合 1DNMR、2DNMR 和 MS 等技术对此化合物进行详细核磁数据归属, 将化合物 **13** 鉴定为 3',6-dipropyl apigenin。

化合物 **1-13** 化学结构见图 1。

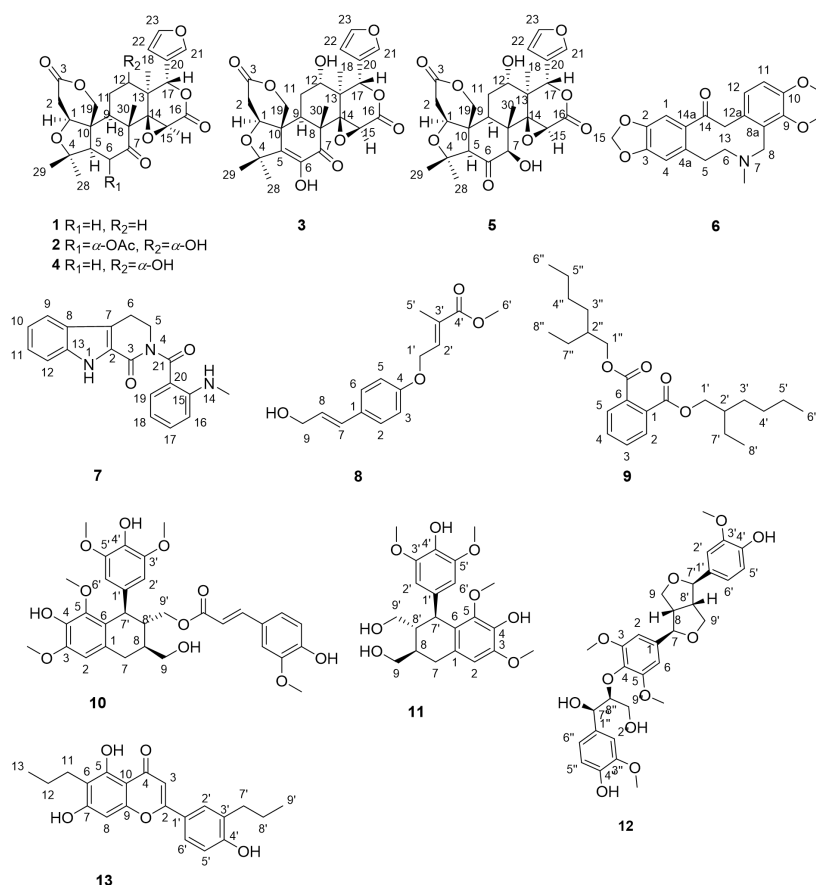


图 1 化合物 **1-13** 的结构

Fig. 1 Structures of compounds **1-13**

## 2.2 LDH 释放抑制率测试结果

本研究对分离得到的化合物进行 LDH 释放抑制率检测，实验结果采用 GraphPad Prism 7.0 软件对数据进行统计分析，化合物对 LDH 释放抑制率如图 2 所示。结果表明化合物 **13** 在浓度为 10  $\mu\text{mol/L}$  时的 LDH 释放抑制率在 50% 以上，证明该浓度下可以将细胞 LDH 释放率明显降低，具有一定的抗炎活性。

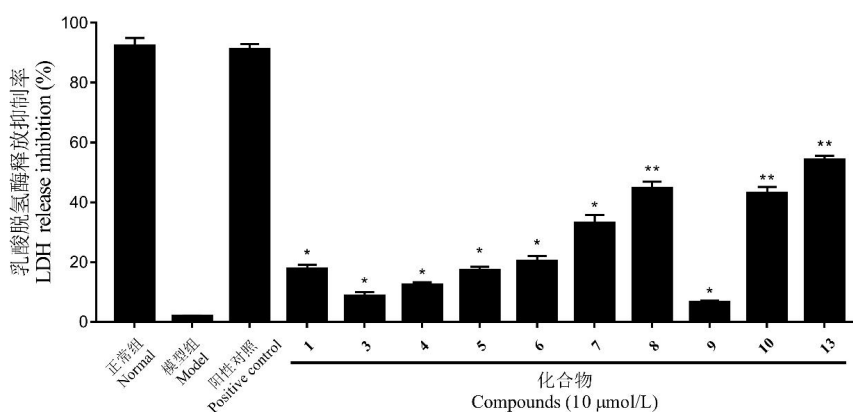


图 2 化合物的乳酸脱氢酶释放抑制率

Fig. 2 LDH release inhibition rate of compounds

注：与模型组对照，\* $P < 0.05$ ，\*\* $P < 0.01$ 。Note: Compared with model group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

### 3 结论

本研究从华南吴茱萸中分离得到 13 个化合物，并且通过核磁共振波谱、质谱等技术对这些化合物的结构进行了鉴定，其中 **6**、**8**、**9** 和 **12** 为首次从吴茱萸属植物中分离得到，其余化合物均为首次从华南吴茱萸中分离得到，丰富了吴茱萸属的化学成分及化学结构的多样性。对化合物进行了 LDH 释放抑制活性测试，其中化合物 **13** 具有较好的抑制效果，证明其具有一定的抗炎活性，为华南吴茱萸的抗炎药用开发利用提供了参考。本研究对明晰华南吴茱萸的化学成分构成及药效物质基础提供了一定的参考依据。

### 参考文献

- 1 Li X, Ge J, Zheng Q, et al. Evodiamine and rutaecarpine from *Tetradium ruticarpum* in the treatment of liver diseases[J]. *Phytomedicine*, 2020, 68: 153180.
- 2 Yan Q, Shan Y, Yin M, et al. Phytochemical and chemotaxonomic study on *Evodia rutaecarpa* var. *officinalis*[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2020, 88: 103961.
- 3 Tan Q, Zhang J. Evodiamine and its role in chronic diseases[M]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 929: 315-328.
- 4 Zhang M, He X, Luan Z, et al. Unusual terpenoids from the fruits of *Evodia rutaecarpa* and their activation on the farnesoid X receptor[J]. *Bioorg Chem*, 2020, 104: 104325.
- 5 Chen M, Liu X, Shan Y, et al. A new quinolone alkaloid with cytotoxic activity from the fruits of *Euodia Rutaecarpa*[J]. *Nat Prod Commun*, 2018, 13: 339-341.
- 6 Xia X, Luo JG, Liu RH, et al. New alkaloids from the leaves of *Evodia rutaecarpa*[J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30: 2154-2159.

- 7 Xiao M. *Euodia rutaecarpa* adulterants—*Evodia austrosinensis* Hand-Mazz[J]. *J Chin Med Mater*(中 药 材),1992,15(1):22-23.
- 8 Yang Y,Wang X,Zhu Q,et al.Synthesis and pharmacological evaluation of novel limonin derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents with high water solubility[J].*Bioorg Med Chem Lett*,2014,24:1851-1855.
- 9 Fan S,Zhang C,Luo T,et al.Limonin:a review of its pharmacology,toxicity,and pharmacokinetics[J].*Molecules*,2019,24(20):3679.
- 10 Shi J,Zhao Y,Wang K,Shi X,et al.Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death[J].*Nature*.2015,526(7575):660-665.
- 11 Han X,Wu GJ,Li YP,et al.Effects of polysaccharides from *Portulaca oleracea* L. on cell viability and comparison of cell viable assays[J].*Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2015,27:344-349.
- 12 Zhang JJ,Yang PY,Fu Q,et al.Caseatardies A-K,eleven undescribed clerodane diterpenoids isolated from *Casearia tardieuae* and their anti-inflammatory activity[J].*Fitoterapia*,2022,163,105328.
- 13 Sugimoto T,Miyase T,Kuroyanagi M,et al.Limonoids and quinolone alkaloids from *Evodia rutaecarpa* Benth[J].*Chem Pharm Bull*,2011,36:4453-4461.
- 14 Qiong LI,Tang C,Changqiang KE,et al.A New limonoid from the fruits of *Evodia rutaecarpa*[J].*J Technol* 2018,18(1):14-18.
- 15 Min YD,Kwon HC,Yang MC,et al.Articles isolation of limonoids and alkaloids from isolation of limonoids and alkaloids from *Phellodendron amurense* *Phellodendron amurense* and their multidrug resistance(MDR) reversal activity and their multidrug resistance(MDR) reversal activity[J].*Arch Pharmacol Res*,2007,30(1):58-63.
- 16 Liao HP,Ouyang H,Huang LQ,et al.Chemical constituents of *Corydalis decumbens*[J].*Chin Tradit Herb Drugs*(中草药),2014,45:3067-3070.
- 17 Wang QZ,Liang JY,Feng X.X-ray crystallographic analysis and revision of NMR spectral assignments for rhesinine[J].*J China Pharm Univ*(中国药科大学学报),2009,400:503-505.
- 18 Zhu DR,Zhu D,Cheng Y,et al.Two new phenylpropanoids form *zanthoxylum utile* huang[J].*Chin J Org Chem*,2013,33:1345-1348.
- 19 Katade SR,Pawar PV,Tungikar VB,et al.Larvicidal activity of bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate from *sterculia guttata* seeds against two mosquito species[J].*Chem Biodiversity*,2006,3(1):49-53.
- 20 Li R,Yun XY,Yu S,et al Lignans and neolignans with antioxidant and human cancer cell proliferation inhibitory activities from *cinnamomum bejolghota* confirm its functional food property[J].*J Agric Food Chem*,2020,68:8825-8835.
- 21 Ouyang MA,Wein YS,Su RK,et al.Rhusemialins A-C,new cyclolignan esters from the roots of *Rhus javanica* var. *roxburghiana*[J].*Chem Pharm Bull*,2007,38:804-807.
- 22 Xiong L,Zhu C,Li Y,et al.Lignans and neolignans from *sinocalamus affinis* and their absolute configurations[J].*J Nat Prod*,2011,74:1188-1200.
- 23 Mumpuni E,Mulatsari E.QSAR analysis on apigenin derivative compounds as antioxidant using semempirical austin model 1[J].*Asian J Chem*,2017,29:1499-1505.
- 24 Lv H,Li Q,Zhong J,et al.Studies on flavonoids from *Helichrysum arenarium*[J].*Chin Phaim J*(中国药 学 杂 志),2008,43(1):11-13.

投稿日期: 2022-07-11

接受日期:

项目基金: 国家自然科学基金(81860615, 81903541, 81422046); 云南省创新团队(202005AE160005)

\*通信作者: E-mail:xiaoweilie@ynu.edu.cn