

桑枝化学成分及其对磷酸二酯酶 4 活性的抑制*

卢若亚¹, 杨璐¹, 吴永春¹, 彭锐斌¹, 廖锡业¹, 曹影影², 何细新¹

1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006
2. 海南医科大学第二附属医院药学部, 海南 海口 570145

摘要: 为研究桑枝的化学成分及其对磷酸二酯酶 4 (PDE4) 的抑制活性, 综合运用正相硅胶、反相硅胶、凝胶等多种色谱技术对桑枝进行分离纯化, 通过 NMR、MS 等波谱数据并结合文献比对鉴定化合物结构; 以氚标记的 3', 5'-环磷酸腺苷 (³H-cAMP) 为底物, 采用液体闪烁计数法测定化合物体外 PDE4 抑制活性。结果表明, 从桑枝醇提物的乙酸乙酯部位分离并鉴定 8 个化合物, 分别为: 桑根皮素 (1)、Mornigrol E (2)、Mornigrol F (3)、桑皮酮 (4)、桑辛素 M-3'-O-β-D-葡萄糖苷 (5)、顺式氧化白藜芦醇-4-O-β-D-葡萄糖苷 (6)、Steppogenin (7)、二氢桑色素 (8), 其中化合物 6 为首次从桑属植物中分离得到, 异戊烯基黄酮类化合物 1、3 和 4 显示良好的 PDE4 抑制作用, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 值分别为 (1.02±0.20)、(0.50±0.07) 和 (0.38±0.06) μmol/L, 具有作为 PDE4 抑制剂先导化合物的研究潜力。

关键词: 桑枝; 化学成分; 磷酸二酯酶 4; 抑制剂

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-0137(XXXX)XX-0001-07

Chemical constituents of Ramulus Mori and their inhibitory activity against phosphodiesterase 4

LU Ruoya¹, YANG Lu¹, WU Yongchun¹, PENG Ruibin¹, LIAO Xiye¹, CAO Yingying², HE Xixin¹

1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China
2. Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570145, China

Abstract: To investigate the chemical constituents of mulberry branches and their inhibitory activity against phosphodiesterase 4 (PDE4), various chromatographic techniques including normal phase silica gel, reversed phase silica gel, and gel were comprehensively utilized for the separation and purification of mulberry branches. The structures of the compounds were identified through spectral data such as NMR and MS, combined with literature comparison. Using tritiated 3', 5'-cyclic adenosine monophosphate (³H-cAMP) as the substrate, the PDE4 inhibitory activity of the compounds was determined in vitro using liquid scintillation counting. The results showed that eight compounds were isolated and identified from the ethyl acetate fraction of the mulberry branch ethanol extract, namely: Morusin (1), Mornigrol E (2), Mornigrol F (3), Kuwanon C (4), Moracin M-3'-O-β-D-glucopyranoside (5),

* 收稿日期: 2026-01-13 录用日期: 2026-03-05 网络首发日期: 2026-04-XX

基金项目: 广东省教育厅重点领域项目 (2024ZDZX2044)

作者简介: 卢若亚 (1998 年生), 女; 研究方向: 小分子药物发现与优化;

E-mail: 20231120264@stu.gzucm.edu.cn

通信作者: 曹影影 (1990 年生), 女; 研究方向: 中药药理学; E-mail: caoyingying@gzucm.edu.cn;

何细新 (1972 年生), 男; 研究方向: 天然药物化学; E-mail: mark07@gzucm.edu.cn

(曹影影、何细新为共同通信作者)



ZR20260017

cis-oxyreseratrol-4-*O*- β -D-glucopyranoside (**6**), Steppogenin (**7**), and Dihydromorin (**8**). Compound **6** was isolated from mulberry plants for the first time. The isopentenyl flavonoids **1**, **3**, and **4** exhibited good PDE4 inhibitory activity, with half-inhibitory concentrations (IC_{50}) values of (1.02 ± 0.20) , (0.50 ± 0.07) , and (0.38 ± 0.06) $\mu\text{mol/L}$, respectively, indicating their potential as lead compounds for PDE4 inhibitors.

Key words: Ramulus Mori; chemical constituents; phosphodiesterase-4; inhibitor

桑枝 (Ramulus Mori) 为桑科 (Moraceae) 桑属 (*Morus*) 植物桑 (*Morus alba* L.) 的干燥嫩枝, 春末夏初采收, 去除叶片、切段、晒干即可药用 (国家药典委员会, 2025) 在中国南方和其他亚洲国家广泛种植。根据《本草图经》和《本草纲目》记载, 桑枝微苦, 性平, 归肝经, 具有行水祛风、利关节作用, 临床常用于风湿痹痛、四肢酸痛麻木、脚气浮肿和风寒湿痹的治疗 (郭明鑫等, 2023)。桑枝含有多糖、黄酮、生物碱等多种成分。桑枝多糖具有抗菌、抗炎、缓解糖尿病、保护肝脏、提高免疫力等作用; 桑枝生物碱可调节糖脂代谢、改善肠道微生态、促进 GLP-1 分泌、保护胰岛 β 细胞 (Feng et al., 2021)。2021 年上市的“桑枝生物碱片”是国内第一个原创的降血糖天然药物, 也是中国近 10 年来批准的第一个治疗糖尿病高血糖的中药新药 (An et al., 2023; Li et al., 2023; Sun et al., 2022; Qu et al., 2023)。课题组前期报道了桑的活性成分桑辛素 M 显示出抑制 PDE4 作用 (Chen et al., 2012)。PDE4 是第二信使 cAMP 的特异性水解酶, 可选择性地调节 cAMP 降解为腺苷酸

(AMP) (Silverberg et al., 2023), 是炎症反应中的关键效应物 (Zhang et al., 2021)。抑制 PDE4 的功能, 可提升胞内 cAMP 水平, 下调多种促炎细胞因子, 如肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白细胞介素 (IL- β 6、IL- β 8、IL- β 13、IL- β 17 A/F、IL- β 22、IL- β 23) 和干扰素 (IFN- γ) 等表达, 和上调抗炎细胞因子 (IL-10) 水平 (Blauvelt et al., 2023; Schepers et al., 2023; Du et al., 2023)。为进一步寻找 PDE4 天然抑制剂, 本研究对桑枝乙醇提取物中具有 PDE4 抑制活性的乙酸乙酯部位进一步分离纯化, 得到 8 个化合物, 经过波谱数据分析和文献对比, 分别鉴定为: 桑根皮素 (**1**)、Mornigrol E (**2**)、Mornigrol F (**3**)、桑皮酮 (**4**)、桑辛素 M-3'-*O*- β -D-葡萄糖苷 (**5**)、顺式氧化白藜芦醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (**6**)、Steppogenin (**7**)、二氢桑色素 (**8**) (图 1), 其中化合物 **6** 首次从桑属植物中分离。体外 PDE4 抑制活性实验结果显示, 异戊烯基黄酮 **1**、**3** 和 **4** 抑制 PDE4 活性显著, 其 IC_{50} 值分别为 (1.02 ± 0.20) 、 (0.50 ± 0.07) 、 (0.38 ± 0.06) $\mu\text{mol/L}$, 具有作为 PDE4 抑制剂先导分子的潜力。

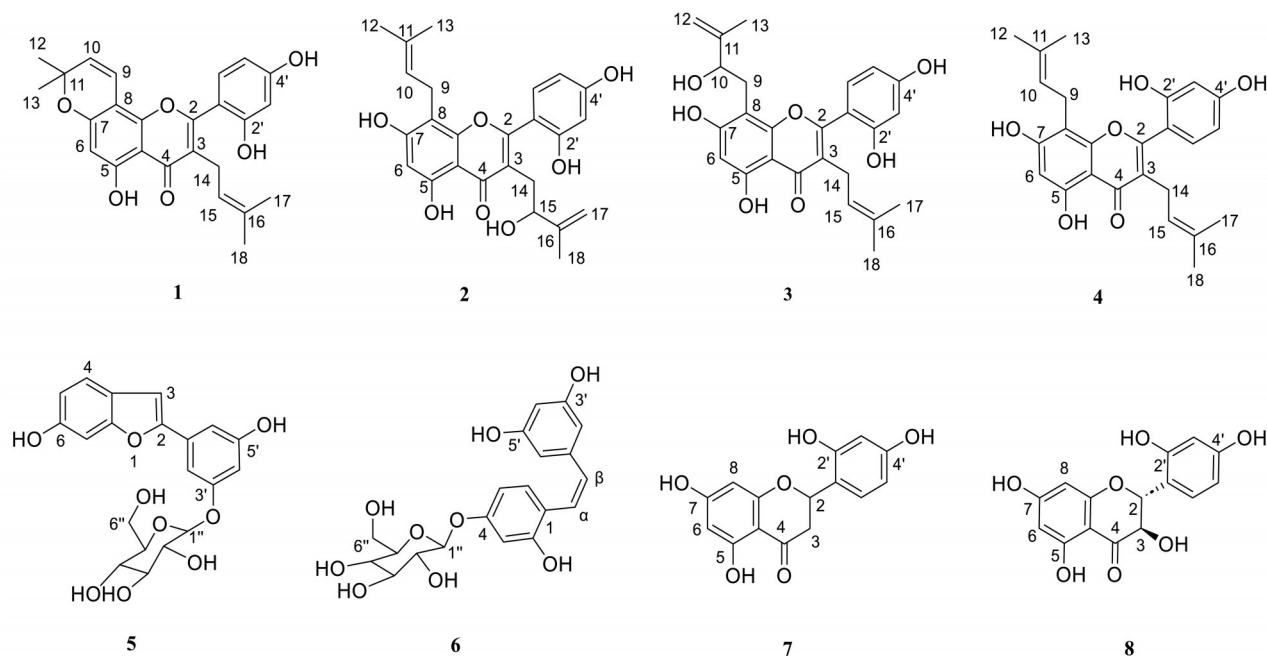


图 1 化合物 1~8 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-8

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Bruker AVANCE 400 光谱仪(德国布鲁克公司); TSQ Quantum 质谱仪(美国赛默飞世尔科技); Bruker AM-400 光谱(瑞士布鲁克公司); 200~300 目硅胶(青岛海洋化工有限公司); C18 反相硅胶(12 nm, S-50 μm , YMC 有限公司); Sephadex LH-20 凝胶(通用电气公司)。分析级溶剂(天津京东天正化学试剂有限公司); Tricarb 2910 液体闪烁计数器(美国 PerkinElmer 公司); 酵母提取物和胰蛋白酶(美国 Oxoid 有限公司); 同位素标记的底物 ^3H -cAMP(美国 GE Healthcare 公司); 3-(4, 5-二甲基-噻唑-2-基)-2, 5-二苯基四唑-溴化铵(MTT)(美国 Amresco 股份有限公司), 阳性对照 rolipram(美国 Sigma 公司); 其他试剂均为分析纯。

1.2 植物材料

桑枝于购自广东致信中药饮片有限公司, 经广州中医药大学中药学院彭光天博士鉴定为桑科桑属植物桑的干燥嫩枝, 凭证样本(生产批号 130401)存放在广州中医药大学中药化学实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

将桑枝粉末(5 kg)经3倍量的 $\varphi=95\%$ 乙醇在室温下浸渍提取24 h, 重复提取4次, 合并提取液, 经减压浓缩得棕黄色浸膏104.0 g。将浸膏悬浮在蒸馏水(250 mL)中, 依次以石油醚(3 \times 200 mL)、乙酸乙酯(7 \times 250 mL)和正丁醇(6 \times 200 mL)萃取, 得到石油醚相36.7 g, 乙酸乙酯相42.7 g, 正丁醇相11.0 g, 水相8.2 g。将乙酸乙酯相浸膏(42.7 g)进行正相硅胶柱色谱分离, 先以石油醚-乙酸乙酯(V/V , 10:1~0:100)梯度洗脱, 后经甲醇-乙酸乙酯(V/V , 1:9~1:1)洗脱, 经薄层分析合并相同点, 得到40个馏分(Fr.1~Fr.40)。

Fr.12(120.0 mg)经Sephadex LH-20色谱分离, 甲醇洗脱, 得到8个子馏分Fr.12-1~Fr.12-8。Fr.12-1(29.6 mg)经ODS柱层析, 以甲醇-水(V/V , 1:1)洗脱, 得到化合物1(6.0 mg), 以甲醇-水(V/V , 7:3)洗脱, 得化合物2(4.0 mg)和化合物3(9.3 mg)。

Fr.13(207.0 mg)经Sephadex LH-20分离, 甲醇洗脱, 得馏分Fr.13-1~Fr.13-6。Fr.13-1经硅胶柱色谱分离, 甲醇-二氯甲烷(V/V , 6:94)洗脱得化合物4(32.6 mg)。

Fr.19(3.6 g)经硅胶柱层析分离, 甲醇-二氯甲

烷体系(V/V , 3:97, 3:7, 1:1)洗脱, 得到馏分Fr.19-1~Fr.19-10。Fr.19-1(193.5 mg)进一步经硅胶色谱分离, 乙酸乙酯-石油醚(V/V , 3:7)洗脱得5个馏分, 其中Fr.19-1-1(130.6 mg)经Sephadex LH-20分离, 甲醇洗脱得化合物7(16.0 mg)。Fr.19-3馏分(62.9 mg)经Sephadex LH-20分离, 甲醇洗脱得3个馏分, Fr.19-3-1(27.1 mg)经硅胶柱色谱分离, 甲醇-二氯甲烷(V/V , 13:87)洗脱得化合物8(25.6 mg)。

Fr.20(4.0 g)经正相硅胶柱色谱分离, 以甲醇-二氯甲烷(V/V , 1:9)洗脱, 得到馏分(Fr.20-1~Fr.20-8)。Fr.20-1经硅胶柱色谱分离, 甲醇-二氯甲烷(V/V , 1:9)洗脱, 得馏分Fr.20-1-1~Fr.20-1-6。Fr.20-1-1(173.7 mg)经Sephadex LH-20柱, 甲醇洗脱, 得化合物5(6.2 mg)。Fr.20-2经硅胶柱色谱分离, 甲醇-二氯甲烷(V/V , 2:23)洗脱, 得馏分Fr.20-2-1~Fr.20-2-8。Fr.20-2-1(328.1 mg)经Sephadex LH-20柱, 甲醇洗脱, 得化合物6(12.3 mg)。

2.2 体外抑制PDE4的活性测试

测试方法参考之前的文献报道(Tan et al., 2017; 邓金辉等, 2022; 陈思竹等, 2025; 黄尚瑛等, 2025)。简言之, 以 ^3H -cAMP为底物测定PDE4催化结构域的酶活性和分离化合物对PDE4的抑制作用, 反应在室温(25 $^{\circ}\text{C}$)下在含有50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5)、10 mmol/L MgCl_2 、0.5 mmol/L (DTT)的混合物中发生15 min。然后使用0.2 mol/L ZnSO_4 终止反应, 未反应的 ^3H -cAMP被0.2 mol/L $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 沉淀出来, 并留在上清液中, 上清液用于用液体闪烁计数器测量, 每次测量重复至少3次, 之后通过非线性回归计算 IC_{50} 值。咯利普兰(rolipram)为阳性对照药物。

2.3 化合物与PDE4的分子对接

采用Auto-Dock软件的Lamarckian算法对抑制活性较好的异戊烯基黄酮1, 3和4与PDE4靶蛋白(PDB code: 1oxq)进行分子对接, 并运用PyMOL进行对接结果可视化, 分析药物分子与靶蛋白的结合模式。

3 结果和讨论

3.1 化合物的结构解析

化合物1: 浅黄色固体, HR-ESI-MS m/z 419.150 7 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (计算值419.149 5), $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{O}_6$ 。 ^1H -NMR(400 MHz, Methanol- d_4) δ_{H} : 7.09(1H, d, $J=8.2$ Hz, H-6'), 6.60(1H, d, $J=10.0$ Hz, H-9), 6.42(1H, dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, H-5'), 6.41(1H, d, $J=2.0$ Hz,

H-3'), 6.15 (1H, s, H-6), 5.59 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-10), 5.09 (1H, t, $J=6.9$ Hz, H-15), 3.10 (2H, d, $J=6.9$ Hz, H-14), 1.58 (3H, s, H-17), 1.43 (6H, s, H-12, 13), 1.40 (3H, s, H-18)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ_{C} : 182.5 (C-4), 161.2 (C-2), 160.2 (C-5), 159.5 (C-4'), 159.4 (C-7), 155.3 (C-2'), 152.2 (C-8a), 133.3 (C-16), 131.7 (C-6'), 127.2 (C-10), 121.4 (C-15), 120.8 (C-3), 114.8 (C-9), 112.2 (C-1'), 108.4 (C-5'), 104.8 (C-8), 103.7 (C-3'), 101.2 (C-4a), 99.8 (C-6), 78.3 (C-11), 28.2 (C-12), 28.2 (C-13), 25.7 (C-14), 24.3 (C-18), 17.5 (C-17)。以上数据与 Guo et al. (2019) 报道的桑根皮素的核磁数据基本一致, 故将该化合物鉴定为桑根皮素 (Morusin)。

化合物 2: 黄色固体, HR-ESI-MS m/z 437.160 8 $[\text{M-H}]^-$ (计算值为 437.160 0), $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{O}_7$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Acetone- d_6) δ_{H} : 7.25 (1H, d, $J=8.9$ Hz, H-6'), 6.53 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-3'), 6.46 (1H, dd, $J=8.9, 2.4$ Hz, H-5'), 6.32 (1H, s, H-6), 5.22 (1H, m, H-10), 4.87 (1H, s, H-17a), 4.65 (1H, s, H-17b), 4.39 (1H, dd, $J=6.6, 4.6$ Hz, H-15), 3.08 (2H, d, $J=6.8$ Hz, H-9), 2.73 (1H, dd, $J=4.5, 13.8$ Hz, H-14b), 2.59 (1H, dd, $J=6.7, 13.8$ Hz, H-14a), 1.57 (3H, s, H-18), 1.57 (3H, s, H-13), 1.57 (3H, s, H-12)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Acetone- d_6) δ_{C} : 183.52 (C-4), 163.04 (C-2), 162.90 (C-7), 161.56 (C-4'), 160.75 (C-5), 157.92 (C-2'), 156.69 (C-8a), 149.23 (C-16), 132.55 (C-6'), 130.93 (C-11), 123.96 (C-10), 118.61 (C-3), 113.37 (C-1'), 110.02 (C-17), 107.63 (C-5'), 107.06 (C-8), 104.34 (C-4a), 103.78 (C-3'), 99.98 (C-6), 74.39 (C-15), 33.44 (C-14), 25.90 (C-13), 22.30 (C-9), 18.01 (C-12), 17.83 (C-18)。以上数据与 Wang et al. (2009) 报道的 Mornigrol E 的核磁数据基本一致, 故将该化合物鉴定为 Mornigrol E。

化合物 3: 黄色固体, HR-ESI-MS m/z 437.160 3 $[\text{M-H}]^-$ (计算值 437.160 0), $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{O}_7$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Acetone- d_6) δ_{H} : 13.13 (1H, s, 5-OH), 7.21 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'), 6.58 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-3'), 6.48 (1H, dd, $J=8.4, 2.2$ Hz, H-5'), 6.24 (1H, s, H-6), 5.16 (1H, m, H-15), 4.91 (1H, s, H-12a), 4.67 (1H, s, H-12b), 4.32 (1H, dd, $J=7.9, 3.1$ Hz, H-10), 3.13 (2H, d, $J=6.8$ Hz, H-14), 3.03 (1H, dd, $J=3.4, 14.2$ Hz, H-9b), 2.88 (1H, dd, $J=8.1, 14.1$ Hz, H-9a), 1.69 (3H, s, H-13), 1.57 (3H, s, H-18), 1.44 (3H, s, H-17)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Acetone- d_6) δ_{C} : 183.09

(C-4), 166.76 (C-2), 161.82 (C-7), 161.64 (C-4'), 161.23 (C-5), 157.62 (C-2'), 156.91 (C-8a), 148.94 (C-11), 132.40 (C-6'), 131.86 (C-16), 123.27 (C-15), 120.63 (C-3), 113.12 (C-1'), 109.96 (C-12), 107.99 (C-5'), 105.14 (C-4a), 104.17 (C-8), 104.08 (C-3'), 100.23 (C-6), 76.81 (C-10), 30.17 (C-9), 25.91 (C-18), 24.79 (C-14), 18.63 (C-13), 17.79 (C-17)。以上数据与 Wang et al. (2009) 报道的 Mornigrol F 的核磁数据基本一致, 故将该化合物鉴定为 Mornigrol F。

化合物 4: 橙黄色固体, HR-ESI-MS m/z 423.179 2 $[\text{M+H}]^+$ (计算值 423.180 8), $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ_{H} : 7.07 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-6'), 6.43 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-3'), 6.40 (1H, dd, $J=8.4, 2.2$ Hz, H-5'), 6.24 (1H, s, H-6), 5.15 (1H, t, $J=7.3$ Hz, H-10), 5.10 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-15), 3.32 (2H, d, $J=7.3$ Hz, H-9), 3.09 (2H, d, $J=7.3$ Hz, H-14), 1.59 (3H, s, H-12), 1.58 (3H, s, H-13), 1.54 (3H, s, H-17), 1.38 (3H, s, H-18)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ_{C} : 184.02 (C-4), 163.58 (C-7), 162.85 (C-2), 161.74 (C-4'), 160.55 (C-5), 157.81 (C-2'), 157.07 (C-8a), 132.66 (C-6'), 132.41 (C-11), 132.07 (C-16), 123.39 (C-10), 122.90 (C-15), 121.34 (C-3), 113.57 (C-1'), 107.92 (C-5'), 107.58 (C-8), 105.30 (C-4a), 103.81 (C-3'), 99.07 (C-6), 25.91 (C-13), 25.84 (C-18), 24.77 (C-19), 22.31 (C-14), 17.74 (C-17), 17.62 (C-12)。以上数据与 Guo et al. (2019) 报道的桑皮酮 C 的核磁数据基本一致, 故将该化合物鉴定为桑皮酮 C (Kuwanon C)。

化合物 5: 黄色固体物, ESI-MS m/z 449.107 6 $[\text{M+HCOO}]^-$ (计算值 449.108 4), $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_{11}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Methanol- d_4) δ_{H} : 7.37 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-4), 7.09 (1H, br s, H-6'), 7.00 (1H, d, $J=0.8$ Hz, H-3), 6.96 (1H, br s, H-2'), 6.93 (1H, br d, H-7), 6.76 (1H, dd, $J=8.4, 2.1$ Hz, H-5), 6.56 (1H, t, $J=2.5$ Hz, H-4'), 4.84 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1''), 3.84 (1H, dd, $J=12.1, 2.1$ Hz, H-6''a), 3.64 (1H, dd, $J=12.1, 5.7$ Hz, H-6''b), 3.57 (1H, m, H-5''), 3.50 (1H, m, H-3''), 3.47 (1H, m, H-2''), 3.43 (1H, m, H-4'')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Methanol- d_4) δ_{C} : 160.57 (C-3'), 160.30 (C-5'), 157.32 (C-6), 157.15 (C-7a), 155.69 (C-2), 133.83 (C-1'), 122.89 (C-4), 122.06 (C-3a), 113.44 (C-5), 106.65 (C-6'), 105.06 (C-2'), 105.06 (C-4'), 102.68 (C-3), 102.42 (C-1''), 98.55 (C-7),

78.22(C-5''), 78.01(C-3''), 74.93(C-2''), 71.42(C-4''), 62.53(C-6'')。以上数据与 Basnet et al.(1993)报道的桑辛素 M-3'-O-β-D-葡萄糖苷的核磁数据基本一致, 确定此化合物为桑辛素 M-3'-O-β-D-葡萄糖苷 (Moracin M-3'-O-β-D-glucopyranoside)。

化合物 6: 黄色固体 (甲醇), HRESI-MS m/z 405.118 5 [M-H]⁻ (计算值 405.118 6), C₂₀H₂₁O₉。¹H-NMR (400 MHz, Pyridine-*d*₅) δ_H: 7.71 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-6), 7.19 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3), 7.11 (1H, d, $J=12.2$ Hz, H-α), 7.07 (2H, d, $J=2.0$ Hz, H-2', 6'), 6.97 (1H, t, $J=2.1$ Hz, H-4'), 6.70 (1H, d, $J=12.2$ Hz, H-β), 6.71 (1H, dd $J=8.6, 2.5$ Hz, H-5), 5.56 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 4.39 (2H, m, H-6''), 4.33 (1H, m, H-3''), 4.27 (1H, m, H-4''), 4.00 (1H, m, H-5'')。¹³C-NMR (100 MHz, Pyridine-*d*₅) δ_C: 160.67 (C-3'), 160.67 (C-5'), 159.43 (C-4), 158.38 (C-2), 140.82 (C-1'), 131.73 (C-6), 129.29 (C-β), 126.60 (C-α), 119.47 (C-1), 108.36 (C-2'), 108.36 (C-6'), 107.90 (C-5), 103.49 (C-3), 102.00 (C-1''), 79.02 (C-5''), 78.69 (C-3''), 75.15 (C-2''), 71.42 (C-4''), 62.54 (C-6'')。以上数据与 Hakim et al. (2004) 报道的顺式氧化白藜芦醇-4-O-β-D-葡萄糖苷 (*cis*-oxyreseratrol-4-O-β-D-glucopyranoside) 的核磁数据基本一致, 确定此化合物为顺式氧化白藜芦醇-4-O-β-D-葡萄糖苷 (*cis*-oxyreseratrol-4-O-β-D-glucopyranoside)。

化合物 7: 黄色粉末, HR-EI-MS m/z 288.064 2 [M-H]⁻ (计算值 288.055 6), C₁₅H₁₁O₆。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ_H: 12.21 (1H, s, 5-OH), 9.67 (s, 1H, 7-OH), 8.69 (s, 1H, 2'-OH), 8.44 (s, 1H, 4'-OH), 7.31 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'), 6.47 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3'), 6.43 (1H, dd, $J=8.4, 2.3$ Hz, H-5'), 5.97 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 5.95 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6), 5.70 (1H, dd, $J=2.9, 13.1$ Hz, H-2), 3.18 (1H, dd, $J=17.1, 13.1$ Hz, H-3a), 2.71 (1H, dd, $J=17.1, 3.0$ Hz, H-3b)。¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ_C: 197.78(C-4), 167.31(C-7), 165.35(C-5), 164.86(C-8a), 159.61 (C-2'), 156.39 (C-4'), 129.01 (C-6'), 117.45 (C-1'), 107.92 (C-5'), 103.56 (C-3'), 103.46 (C-4a), 96.75 (C-6), 95.83 (C-8), 75.40 (C-2), 42.64 (C-3)。以上数据与 Jeong et al. (2009) 报道的 Steppogenin 核磁数据基本一致, 故将该化合物鉴定为 Steppogenin。

化合物 8: 灰色针状结晶, HR-ESI-MS m/z

303.051 6 [M-H]⁻ (计算值 303.050 5), C₁₅H₁₁O₇。[α]_D²⁵ = +63.5 (*c* 0.1, MeOH)。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ_H: 11.73 (1H, s, 5-OH), 7.32 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-6'), 6.47 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3'), 6.43 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-5'), 5.98 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 5.93 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 5.49 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-2), 4.87 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-3)。¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ_C: 198.68 (C-4), 167.81 (C-7), 165.04 (C-5), 164.62 (C-8a), 159.86 (C-2'), 158.07 (C-4'), 130.72 (C-6'), 115.42 (C-1'), 107.88 (C-5'), 103.72 (C-3'), 101.58 (C-4a), 96.94 (C-6), 95.97 (C-8), 79.27 (C-2), 72.13 (C-3)。以上数据与 Zheng et al. (2011) 报道的 Dihydromorin 的核磁数据基本一致, 故将该化合物鉴定为二氢桑色素 (Dihydromorin)。

3.2 化合物抑制 PDE4 活性及结合模式

对分离得到的 8 个化合物开展了体外抑制 PED4D2 活性测试。结果表明, 异戊烯基黄酮 1、3 和 4 表现出显著的抑制活性 (表 1), 其 IC₅₀ 值分别为 (1.02±0.20)、(0.50±0.07) 和 (0.38±0.06) μmol/L。从结构来看, C-3 位有完整异戊烯基取代的化合物 1、3 和 4 活性较高, 而 C-3 位异戊烯基链上有羟基取代的化合物 2 活性降低。

表 1 化合物体外抑制 PDE4D2 活性

Table 1 Inhibitory activities of the constituents of *Ramulus Mori* against PDE4D2 *in vitro* μmol/L

化合物	IC ₅₀	化合物	IC ₅₀
1	1.02 ± 0.20	5	> 10.00
2	> 10.00	6	> 10.00
3	0.50 ± 0.07	7	> 10.00
4	0.38 ± 0.06	8	> 10.00
		咯利普兰 ¹⁾	0.59 ± 0.05

1) 咯利普兰为阳性药。

化合物与 PDE4 靶蛋白结合模式结果如图 2 所示: 化合物 1 骨架上吡喃环伸向 M 口袋, 利用吡喃环上氧原子与 His-160 形成氢键作用, 但仅依赖单个残基的氢键, 相互作用较弱; 而化合物 3 和 4 与 ASP-318、Zn²⁺ 形成双配位; 同时疏水区 Gln-369 残基与配体形成双氢键, 相互作用强度高, 这些结合特征可能是化合物 3 和 4 对 PDE4D2 抑制效力较高的原因 (图 2 中红色虚线表示氢键)。

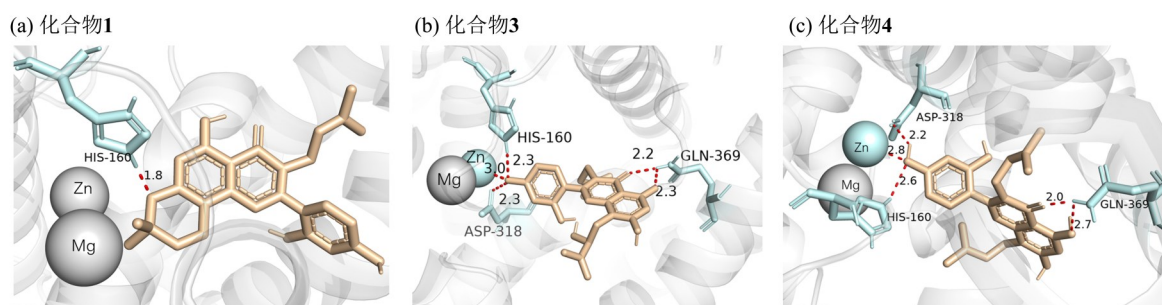


图2 化合物1、3、4与PDE4靶蛋白(PDB code: 1oxq)的结合模式图

Fig. 2 Binding patterns of compounds 1, 3 and 4 with target protein PDE4 (PDB code: 1oxq)

4 结论

本研究从桑枝乙醇提取物的乙酸乙酯相分离鉴定了8个化合物,包括6个黄酮,1个苯吡啶喃昔,1个顺式二苯乙烯昔。6个黄酮化合物中,有4个含有异戊烯基,其它2个为二氢黄酮。所得黄酮化合物母环上有共同的氧代特征:A环上均为5,7-二氧取代,B环上为2',4'-二羟基取代。化合物1、3和4显示良好的PDE4抑制作用,其半数抑制浓度(IC_{50})低于 $10 \mu\text{mol/L}$ 。化合物3和4抑制活性优于阳性药咯利普兰,其 IC_{50} 值分别为 $(0.50 \pm$

$0.07)$ 、 $(0.38 \pm 0.06) \mu\text{mol/L}$ 。化合物3和4作为配体能与PDE4蛋白的 Zn^{2+} 双配位,Asp-318,同时参与 Zn^{2+} 配位;且与Gln-369与配体形成双氢键。本研究首次从桑中获得了一个顺式结构的二苯乙烯昔,丰富了桑的化学成分类型,还筛选到具有PDE4抑制作用活性成分,并初步研究了活性成分与PDE4靶蛋白的模式。研究结果不仅为PDE4新型抑制剂药物设计、研发提供先导分子,还可为桑枝及其复方的质量控制、安全性评价及揭示桑枝发挥抗炎免疫药用功效的内在机制研究提供科学依据。

参考文献:

- 陈思竹,王雪,吴银飞,等,2025. α -倒捻子素C3和C6位衍生物的合成及其抑制磷酸二酯酶4活性[J].中山大学学报(自然科学版中英文),64(3):26-35.
- 邓金辉,黄悦,梁津豪,等,2022. α -倒捻子素衍生物合成及其抑制磷酸二酯酶4活性研究[J].中山大学学报(自然科学版中英文),61(3):53-61.
- 国家药典委员会,2025.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社.
- 郭明鑫,吴霞,沈颖,等,2023.桑枝的化学成分、药理活性研究进展及质量标志物预测分析[J].西北药学杂志,38(5):224-229.
- 黄尚瑛,刘兴福,陈思竹,等,2025.芒果昔元衍生物的设计合成及其抑制磷酸二酯酶4活性[J].中山大学学报(自然科学版中英文),64(4):79-90.
- AN X, YANG X, DING X J. 2023. Ramulus Mori (Sangzhi) alkaloids tablets for diabetes mellitus: A regulatory perspective[J]. Fitoterapia, 166: 105444.
- BASNET P, KADOTA S, TERASHIMA S, et al, 1993. Two new 2-arylbenzofuran derivatives from hypoglycemic activity-bearing fractions of *Morus insignis* [J]. Chem Pharm Bull, 41(7): 1238-1243.
- BLAUVELT A, LANGLEY R G, GORDON K B, et al, 2023. Next generation PDE4 inhibitors that selectively target PDE4B/D subtypes: A narrative review[J]. Dermatol Ther, 13(12): 3031-3042.
- CHEN S K, ZHAO P, SHAO Y X, et al, 2012. Moracin M from *Morus alba* L. is a natural phosphodiesterase-4 inhibitor[J]. Bioorg Med Chem Lett, 22(9):3261-3264.
- DU B, LUO M, REN C, et al, 2023. PDE4 inhibitors for disease therapy: Advances and future perspective [J]. Future Med Chem, 15(13): 1185-1207.
- FENG Z, PENG S, WU Z, et al, 2021. Ramulus Mori polysaccharide-loaded PLGA nanoparticles and their anti-inflammatory effects *in vivo* [J]. Int J Biol Macromol, 182:2024-2036.
- GUO S, LIU L, ZHANG S, et al, 2019. Chemical characterization of the main bioactive polyphenols from the roots of *Morus australis* (mulberry) [J]. Food Funct, 10(10): 6915-6926.
- HAKIM E H, ACHMAD S A, AIMI N, et al, 2004. Regioselective glucosylation of oxyresveratrol by cell suspension cultures of *Solanum mammosum* [J]. J Chem Res, 2004

- (10): 706–707.
- LI E, LI S, WANG S, et al, 2023. Antibacterial effects of *Ramulus Mori* oligosaccharides against *Streptococcus mutans*[J]. *Foods*, 12(17): 3182.
- LI Z, CAI Y H, CHENG Y K, et al, 2013. Identification of novel phosphodiesterase-4D inhibitors prescreened by molecular dynamics-augmented modeling and validated by bioassay[J]. *J Chem Inf Model*, 53(4): 972–981.
- JEONG S H, RYU Y B, CURTIS-LONG M J, et al, 2009. Tyrosinase inhibitory polyphenols from roots of *Morus lhou*[J]. *J Agric Food Chem*, 57(4): 1195–1203.
- QU L, LIANG X, TIAN G, et al, 2021. Efficacy and safety of mulberry twig alkaloids tablet for the treatment of type 2 diabetes: A multicenter, randomized, double-blind, double-dummy, and parallel controlled clinical trial[J]. *Diabetes Care*, 44(6): 1324–1333.
- SCHEPERS M, PAES D, TIANE A, et al, 2023. Selective PDE4 subtype inhibition provides new opportunities to intervene in neuroinflammatory versus myelin damaging hallmarks of multiple sclerosis[J]. *Brain Behav Immun*, 109:1–22.
- SILVERBERG J I, FRENCH L E, WARREN R B, et al, 2023. Pharmacology of orismilast, a potent and selective PDE4 inhibitor[J]. *Eur Acad Dermatol Venereol*, 37(4): 721–729.
- SUN Q W, LIAN C F, CHEN Y M, et al, 2022. *Ramulus Mori* (Sangzhi) alkaloids ameliorate obesity-linked adipose tissue metabolism and inflammation in mice[J]. *Nutrients*, 14(23):5050.
- TAN B X, YANG L, HUANG Y Y, et al, 2017. Bioactive triterpenoids from the leaves of *Eriobotrya japonica* as the natural PDE4 inhibitors. *Nat Prod Res*, 31(24): 2836–2841.
- WANG L, GONG T, CHEN R Y, 2009. Two new prenylflavonoids from *Morus nigra* L.[J]. *Chin Chemical Lett*, 20(12): 1469–1471.
- ZHANG R, LI H, ZHANG X, et al, 2021. Design, synthesis, and biological evaluation of tetrahydroisoquinolines derivatives as novel, selective PDE4 inhibitors for anti-psoriasis treatment[J]. *Eur J Med Chem*, 211:113004.
- ZHENG Z P, ZHU Q, FAN C L, et al, 2011. Phenolic tyrosinase inhibitors from the stems of *Cudrania cochinchinensis*[J]. *Food Funct*, 2(5): 259–264.

(责任编辑 张 冰)