

大鼠肠道菌群对紫丁香苷体外代谢转化研究

杨宝¹, 范真¹, 周联¹, 朱锦萍¹, 杨滔¹, 丘茂松¹, 金晶^{2*}, 赵钟祥^{1*}

1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 中山大学药学院, 广东 广州 510006

摘要: **目的** 观察大鼠肠道菌群对紫丁香苷的体外代谢转化作用。**方法** 将紫丁香苷与离体大鼠肠道菌群的孵育液分别培养0、4、8、12、24、48 h后取样, 经正丁醇萃取后采用HPLC和LC-MS法对代谢产物进行定性和定量分析; 扩大培养24 h的孵育液经正丁醇萃取后, 采用ODS柱色谱和重结晶方法分离制备代谢产物, NMR法鉴定其结构。**结果** 大鼠肠道菌群对紫丁香苷具有显著的代谢转化作用。在0~48 h代谢组的孵育液中共检测到2个代谢产物芥子醇(M₁)和右旋丁香树脂酚(M₂)。12 h时有81%的紫丁香苷被代谢转化, 24 h时紫丁香苷已经完全被代谢转化; 并且检测到12 h之前的主要代谢产物为M₁, 24 h后的主要代谢产物为M₂, 且24 h后未能检测到M₁。**结论** 在离体条件下, 大鼠肠道菌群可以在24 h内将紫丁香苷完全代谢转化为M₁, 然后再将M₁代谢转化为M₂, 且8~12 h内转化紫丁香苷的速率最快。

关键词: 紫丁香苷; 肠道菌群; 芥子醇; 右旋丁香树脂酚; HPLC; LC-MS

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)09-1333-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.09.014

In vitro metabolic transformation of syringin by rat intestinal flora

YANG Bao¹, FAN Zhen¹, ZHOU Lian¹, ZHU Jin-ping¹, YANG Tao¹, QIU Mao-song¹, JIN Jing², ZHAO Zhong-xiang¹

1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China

Abstract: **Objective** To study the *in vitro* metabolic transformation of syringin by rat intestinal flora *in vitro*. **Methods** When syringin was incubated for 0, 4, 8, 12, 24, and 48 h with rat intestinal flora *in vitro*, the incubation medium was respectively extracted with *n*-BuOH, and then HPLC and LC-MS were applied for the qualitative and quantitative analysis of the metabolites. The metabolites were extracted with *n*-BuOH, isolated by ODS column chromatography, and recrystallization from the extended medium after 24 h of incubation, and their structures were determined on the basis of the NMR experiments. **Results** Syringin could be easily metabolized by rat intestinal flora *in vitro*. About 81% of the syringin was metabolized at 12 h, and it was completely metabolized at 24 h. Two metabolites, sinapyl alcohol (M₁) and (+)-syringaresinol (M₂), in the incubation medium of experimental group were identified within 48 h. The major metabolite was M₁ during the first 12 h, and M₂ was the only metabolite identified after 24 h. **Conclusion** *In vitro*, syringin could be completely metabolized to M₁, and then converted into M₂ by rat intestinal flora within 24 h, and the metabolism of syringin to M₁ is proceeded most rapidly in 8~12 h.

Key words: syringin; intestinal flora; sinapyl alcohol; (+)-syringaresinol; HPLC; LC-MS

肠道菌群是完成中药有效成分代谢的重要因素之一, 中药有效成分可能在吸收入血之前就已经在肠道内与肠道菌群发生了相互作用, 这可能导致中药有效成分活性的增加、失活, 或者是减毒、增毒,

生物利用度的改变^[1], 因此明确肠道菌群对中药有效成分的代谢转化规律对于揭示中药有效成分的体内过程具有重要意义。紫丁香苷(syringin)是中药救必应的主要成分之一, 药材中其量可达1.92%,

收稿日期: 2014-12-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81270054, 30901954); 广东省自然科学基金资助项目(9451040701003203); 广东省优秀青年教师培养计划(Yq2013045); 广州市珠江科技新星专项(2011J2200047)

作者简介: 杨宝(1991—), 男, 硕士研究生在读, 从事中药活性成分及其代谢转化研究。E-mail: yb58@live.com

***通信作者** 金晶(1980—), 女, 讲师。Tel: (020)39943034 E-mail: jinjing@mail.sysu.edu.cn

赵钟祥(1979—), 男, 教授。Tel: (020)39358072 E-mail: zzx37@163.com

它也是救必应药材及其制剂质量控制的重要指标性成分^[2-4]。现代药理学研究表明,紫丁香苷具有明显的抗炎镇痛^[5]、降血糖^[6]、免疫调节^[7]和保肝作用^[8]。肠道菌群在苷类化合物的体内代谢转化过程中扮演着重要角色,许多苷类化合物口服后可能需要经过肠道菌群代谢转化后才能被吸收、发挥药效作用。目前市场上含有紫丁香苷成分的制剂以口服给药的方式为主,而且紫丁香苷与肠道菌群相互作用的研究还鲜有文献报道,因此探究紫丁香苷与肠道菌群的相互作用对于揭示其药效机制具有重要的意义。本实验采用离体温孵共培养方法考察了大鼠肠道菌群对紫丁香苷的代谢转化规律,并采用了 HPLC、LC-MS 和 NMR 方法对代谢产物进行了定量分析和定性鉴别,以期为阐明其在胃肠道内的代谢转化特征和药效作用机制提供科学依据。

1 仪器与试剂

Bruker AVANCE III 500 MHz 核磁共振仪,德国 Bruker 公司;岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪,岛津 SIL-20A 自动进样器,岛津 LC-20A 色谱工作站,日本岛津有限公司;分析色谱柱:Kromasil 100-5 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);LCQ FLEETTM 离子阱质谱仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;AEG-220 型电子分析天平,日本岛津有限公司;RE-2000 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;TGL-16C 型高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;THZ-320 型台式恒温振荡器,上海精宏实验设备有限公司;SW-CJ-1FD 型洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司。

紫丁香苷为本课题组从救必应药材中分离纯化所得,经面积归一化法检测其质量分数大于 98.0%;色谱甲醇,批号 Me-1240926,瑞典欧森巴克环境化学公司;三氟乙酸,批号 1214025,美国赛默飞世尔科技有限公司。磷酸氢二钾,批号 20120716;磷酸二氢钾,批号 20120130;氯化钠,批号 20111014;硫酸铵,批号 20101008;氯化钙,批号 20120317;一水硫酸镁,批号 20110805;L-半胱氨酸,批号 20101008;碳酸钠,批号 20110913;以上试剂均购自于上海国药集团化学试剂有限公司。刃天青,批号 J1224053,阿拉丁有限公司;L-抗坏血酸,批号 20110517,天津大茂化学试剂厂。牛肉膏,批号 20120308;蛋白胨,批号 20120726;以上 2 种试剂购自于北京奥博星生物科技有限公司。营养琼脂,批号 3101093,广州环凯微生物科技有限公司;水为怡宝水;其他试剂均为分析纯。SPF 级 SD 大鼠,

购于广州中医药大学实验动物中心,合格证号为 SCXK(粤)-2008-0020。

2 方法与结果

2.1 厌氧培养液的制备^[9]

取溶液 A(0.78%磷酸氢二钾)37.5 mL,溶液 B(0.47%磷酸二氢钾、1.18%氯化钠、1.20%硫酸铵、0.12%氯化钙、0.25%一水硫酸镁)37.5 mL,L-半胱氨酸 0.5 g,8.00%碳酸钠溶液 50.0 mL,0.10%刃天青 1.0 mL,25%L-抗坏血酸 2.0 mL,1.0 g 牛肉膏,1.0 g 蛋白胨,1.0 g 营养琼脂,蒸馏水定容至 1 000 mL,最后调 pH 为 7.5~8.0,即得厌氧培养液。115 °C 灭菌 30 min,冷却后备用。

2.2 大鼠肠道菌群孵育液的制备^[10]

取新鲜大鼠粪便,将粪便与生理盐水按质量体积比 1:4 制成混悬液,离心 10 min(2 000 r/min)后取上清液,按体积比 1:9 加入厌氧培养液中,混匀后得大鼠肠道菌群孵育液。将大鼠肠道菌群孵育液置于培养瓶中,充氮气除去氧气,然后置于恒温振荡器中(150 r/min,37 °C)培养 24 h 后得到孵育液(1),取适量孵育液(1)在 115 °C 条件下灭菌 30 min,得到孵育液(2)。

2.3 大鼠肠道菌群对紫丁香苷的代谢转化

取“2.2”项中孵育液(1)和孵育液(2),每组每个时间点 3 份,每份 1.0 mL 置于培养管中,根据预试验的结果和文献的相关研究^[11],各加入紫丁香苷 0.75 mg,快速充氮气除去氧气,然后置于恒温振荡器中(150 r/min,37 °C)培养 0、4、8、12、24、48 h。按时间点取出各个样品,用正丁醇萃取 3 次,每次 1.0 mL,合并萃取液,减压蒸干,残渣用甲醇溶解定容至 1.0 mL,离心 10 min(10 000 r/min)后取上清液进行 HPLC 分析。

2.4 HPLC 方法建立

2.4.1 色谱条件 Kromasil 100-5 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.02%三氟乙酸水溶液,梯度洗脱:0~3 min,30%~35%甲醇;3~6 min,35%~40%甲醇;6~15 min,40%~42%甲醇;15~20 min,42%~60%甲醇;20~24 min,60%甲醇;体积流量为 1.0 mL/min;检测波长为 210 nm;进样量为 5 μL;柱温为 30 °C。

2.4.2 专属性试验 在“2.4.1”项色谱条件下,记录孵育液(1)、紫丁香苷对照品、孵育液(2)+紫丁香苷对照品、紫丁香苷被代谢 8 h 样品的色谱图。结果见图 1,孵育液中其他组分不干扰紫丁香苷的测定。

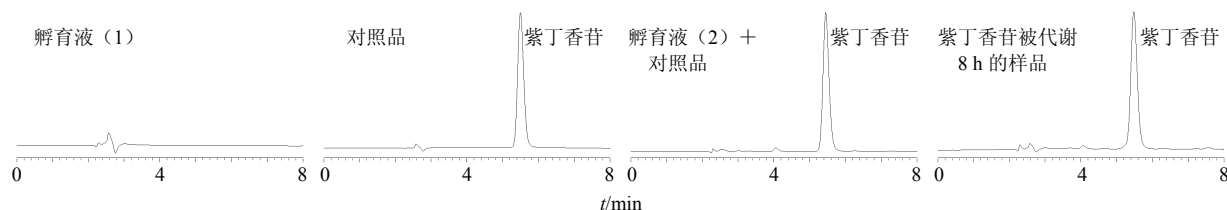


图1 专属性试验的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC of specificity test

2.4.3 紫丁香苷在大鼠肠道菌群孵育液中线性关系的考察 精密称取 50.0 mg 紫丁香苷于 5 mL 量瓶中,并用色谱甲醇定容,即得 10.0 mg/mL 的标准贮备液,用色谱甲醇依次稀释成不同质量浓度梯度的标准工作液 ($n=7$)。取孵育液 (2) 1.0 mL,加入 200 μ L 的上述标准工作液,使紫丁香苷质量浓度分别为 1.300、0.600、0.300、0.150、0.075、0.030 和 0.003 mg/mL,每个质量浓度各 2 份,按“2.3”项下方法操作。HPLC 分析结果表明,紫丁香苷的质量浓度在 0.003~1.300 mg/mL 内线性关系良好,得线性回归方程 $Y=1.814 \times 10^7 X-2.115 \times 10^5$, $r=0.9995$ 。

2.4.4 精密度试验 取上述 10.0 mg/mL 的紫丁香苷标准贮备液,用色谱甲醇稀释成高、中、低 3 个质量浓度的标准工作液。取孵育液 (2) 1.0 mL,分别加入 200 μ L 的上述稀释后的标准工作液,使紫丁香苷质量浓度分别为 1.000、0.150、0.009 mg/mL,每个质量浓度平行 5 份。按“2.3”项下方法处理样品,照“2.4.1”项下色谱条件分析,每个质量浓度连续进样 6 次,检测日间精密度;连续测定 3 d 并随行回归曲线,测定日间精密度。HPLC 分析结果表明,紫丁香苷高、中、低 3 个质量浓度的日内精密度 RSD 分别为 3.68%、2.90%、4.53%,日间精密度 RSD 分别为 3.34%、2.64%、4.23%。

2.4.5 绝对回收率试验 按“2.4.4”项下方法制备高、中、低 3 个质量浓度的紫丁香苷孵育液 (2) 样品,每个质量浓度平行 5 份,按“2.3”项下方法处理样品,另取紫丁香苷质量浓度分别为 1.000、0.150、0.009 mg/mL 的标准工作液作为对照。所有样品照“2.4.1”项下色谱条件分析,每个质量浓度连续进样 6 次,记录峰面积,按下式计算绝对回收率:绝对回收率=孵育液 (2) 样品的峰面积/相应质量浓度标准工作液的峰面积。HPLC 分析结果表明,紫丁香苷高、中、低 3 个质量浓度的绝对回收率分别为 96.33%、87.02%、88.48%,RSD 分别为

3.68%、2.90%、4.53%。

2.4.6 紫丁香苷在大鼠肠道菌群孵育液中的稳定性试验 按“2.4.4”项下方法制备高、中、低 3 个质量浓度的紫丁香苷孵育液 (2) 样品,每个质量浓度平行 3 份,混匀后置于恒温振荡器中 (150 r/min, 37 $^{\circ}$ C) 培养 0、4、8、12、24、48 h,按时间点取出各个样品,照“2.3”项下方法处理样品,“2.4.1”项下色谱条件分析,以紫丁香苷在 0 h 时检测到的峰面积为准,按下式计算相对误差 (RE): $RE=|[\text{上述各时间点孵育液 (2) 样品的峰面积}-0 \text{ h 时检测到的峰面积}]/0 \text{ h 时检测到的峰面积}|$ 。结果表明,紫丁香苷在孵育液 (2) 中 48 h 内的 RE 均小于 4.2%。

2.5 紫丁香苷在大鼠肠道菌群孵育液中的代谢转化分析

根据已建立的 HPLC 方法,对代谢组 0~48 h 的孵育液进行分析,检测到紫丁香苷 (M) 的 2 个代谢产物 M_1 和 M_2 ,并且观察到 12 h 前的主要代谢产物为 M_1 ,24 h 后的主要代谢产物为 M_2 ,且 24 h 后未能检测到 M_1 ,因此推测可能是紫丁香苷先代谢转化为 M_1 ,然后 M_1 再转化为 M_2 ,色谱图见图 2。图 3 为紫丁香苷随时间的质量浓度变化曲线,结果表明,12 h 时有 81% 的紫丁香苷被代谢转化,24 h 时 100% 的紫丁香苷被代谢转化,8~12 h 内紫丁香苷被代谢转化的速率最快。

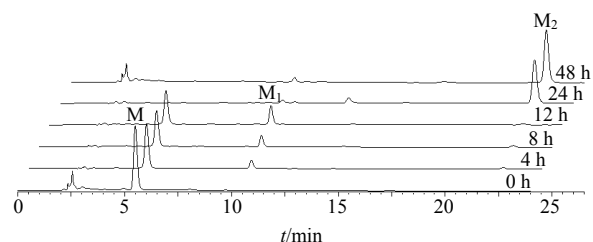


图2 大鼠肠道菌群对紫丁香苷体外代谢转化的HPLC图谱
Fig. 2 HPLC of *in vitro* metabolic transformation by rat intestinal flora

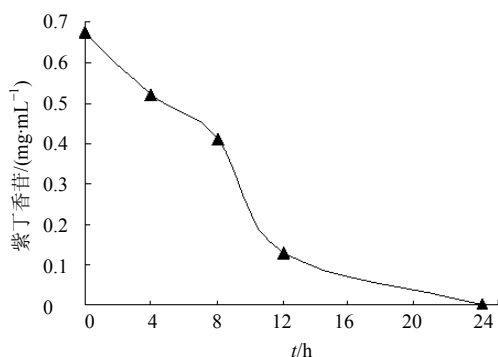


图3 紫丁香苷在大鼠肠道菌群孵育液中的质量浓度-时间曲线
Fig. 3 Concentration-time profiles of syringin in incubation solution of rat intestinal flora

2.6 LC-MS 分析紫丁香苷在大鼠肠道菌群中的代谢产物

2.6.1 色谱条件 按照“2.4.1”项下色谱条件进行。

2.6.2 质谱条件 离子源为 ESI 源, 喷雾电压为 4.0 kV, 检测离子为正离子, 扫描范围为 m/z 50~1 000; 毛细管电压为 35 V, 毛细管温度为 275 °C; 鞘气和辅助气为氮气, 体积流量均为 10 L/min; 其他参数由仪器自动优化。

2.6.3 紫丁香苷孵育液的 LC-MS 分析 由于在代谢组 8 h 孵育液的 HPLC 分析中同时检测到了代谢产物 M_1 和 M_2 , 因此质谱分析时也选用了代谢组和空白组 8 h 时的孵育液。通过比较代谢组与空白组样品的总离子流图, 结果发现代谢组 8 h 的孵育液中出现了 2 个未知峰, 其保留时间与 M_1 和 M_2 一致。在保留时间为 5.47 min 时, 一级质谱中显示了 m/z 767 $[2M+Na]^+$ 、395 $[M+Na]^+$ 和 390 $[M+NH_4]^+$ 的准分子离子峰, m/z 193 $[M+H-C_6H_{12}O_6]^+$ 和 161 $[M-C_6H_{12}O_6-OCH_3]^+$ 的碎片离子峰, 除去 m/z 767 $[2M+Na]^+$ 的准分子离子峰, 其余峰与紫丁香苷对照品和文献报道一致^[12], 验证了 M 为紫丁香苷。保留时间为 10.52 min 时, 一级质谱中显示了 m/z 233 $[M+Na]^+$ 的准分子离子峰, m/z 193 $[M+H-H_2O]^+$ 和 161 $[M-H_2O-OCH_3]^+$ 的碎片离子峰, 根据文献的研究结果^[1,13], 苷类化合物在肠道菌群的作用下一般先水解生成苷元, 且 M_1 的准分子离子峰和碎片离子峰与芥子醇的一致, 所以推测代谢产物 M_1 为芥子醇。保留时间为 22.03 min 时, 一级质谱中显示了 m/z 441 $[M+Na]^+$ 、419 $[M+H]^+$ 、401 $[M+H-H_2O]^+$ 的离子峰, 由于从质谱中获得的信息有限, 因此将结合核磁技术确定 M_2 的结构。

2.7 代谢产物 M_2 的分离及鉴定

2.7.1 代谢产物 M_2 的分离 取新配制的孵育液(1) 340 mL 置于 500 mL 厌氧培养瓶中, 加入紫丁香苷 340 mg, 快速充氮气除去氧气, 然后置于恒温振荡器中 (150 r/min, 37 °C) 培养 24 h, 然后孵育液用正丁醇萃取 4 次, 每次 200 mL, 合并萃取液, 减压蒸干得代谢后的样品。将上述样品经 ODS 柱色谱分离, 甲醇-水 (30%→35%→40%→100%) 梯度洗脱, 以 TLC 进行检测, 合并含有代谢产物 M_2 的流分, 甲醇中重结晶得到代谢产物 M_2 。分离得到的代谢产物 M_2 与“2.5”项下 24 h 的样品在“2.4.1”项色谱条件下通过 HPLC 进行对比分析, 结果分离得到的代谢产物 M_2 的色谱行为与代谢 24 h 的样品中的代谢产物 M_2 一致。

2.7.2 代谢产物 M_2 的结构鉴定 无色针状结晶(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 3.09 (2H, m, H-1, 5), 3.90 (12H, s, 4×-OCH₃), 4.26~4.30 (4H, m, H-4, 8), 4.73 (2H, d, J = 4.5 Hz, H-2, 6), 6.58 (4H, s, Ar-H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 54.5 (C-1, 5), 56.5 (4×-OCH₃), 71.9 (C-4, 8), 86.2 (C-2, 6), 102.8 (C-2', 2'', 6', 6''), 132.2 (C-1', 1''), 134.4 (C-4', 4''), 147.3 (C-3', 3'', 5', 5'')。以上核磁数据与文献报道一致^[14], 故确定代谢产物 M_2 为右旋丁香树脂酚。

3 讨论

本课题组首次发现了大鼠肠道菌群不仅能够 24 h 内迅速将紫丁香苷完全水解失去糖生成苷元芥子醇, 还能进一步将芥子醇缩合为右旋丁香树脂酚; 肠道菌群在经过 0~8 h 代谢速率较慢的延滞期后, 就很快适应了培养环境, 并且以较快的速率代谢紫丁香苷, 在 12 h 时就已经有 81% 的紫丁香苷被代谢转化; 但是在 12~24 h 可能由于营养物质的量和紫丁香苷浓度的降低, 代谢速率又相对较慢, 最终紫丁香苷在 24 h 时被代谢完全。实验过程中采用了 HPLC 梯度洗脱的方式, 实时监测了原型和代谢产物的变化, 同时应用了 LC-MS 和 NMR 法准确地分析了代谢产物。由于糖类是肠道菌群重要的碳源, 因此多数苷类化合物经口服给药后, 一般先经过肠道菌群的作用水解失去糖, 然后再发生乙酰化、开环、氧化和缩合等化学反应^[1,13,15], 所以本课题组的这一发现符合多数苷类化合物在肠道内的代谢转化规律。紫丁香苷通过体外大鼠肠道菌群代谢后的产物极性减小, 脂溶性增加, 可能直接或者间接影响其生物利用度和在肝脏组织中的 I 相和 II 相代谢反

应^[1,16], 从而影响其药理活性。Choi 等^[5]的研究表明芥子醇的抗肿瘤、治疗关节炎、减少 PGE₂ 和 TNF- α 产生的活性均强于紫丁香苷; 最终的代谢转化产物右旋丁香树脂酚具有抗炎、抗幽门螺杆菌^[17]、舒张血管^[18]、抗烟草花叶病毒^[19]、调节 IL-12 和 IFN- γ 分泌^[20]的活性, 除了抗炎活性, 右旋丁香树脂酚其他的活性都是紫丁香苷所不具有的。

本研究采用体外模型考察了肠道菌群对紫丁香苷的代谢转化特点, 尚未进行其在体内的代谢转化研究, 因此在后续研究中有待深入考察紫丁香苷及其代谢产物体内代谢的情况, 并对紫丁香苷及其代谢产物的生物活性进行考察。此外, 肠道菌受环境的影响较大, 比如饮食和受试对象的健康状态; 实验用大鼠与人肠道菌的种类也可能存在较大的区别, 因此本实验中大鼠肠道菌群对紫丁香苷的体外代谢转化规律是否具有普遍性还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Kang M J, Kim H G, Kim J S, *et al.* The effect of gut microbiota on drug metabolism [J]. *Exp Opin Drug Metab Toxicol*, 2013, 9(10): 1295-1308.
- [2] 毕福钧, 钟顺好, 陈 藹, 等. HPLC 法同时测定救必应药材中紫丁香苷和长梗冬青苷 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1386-1388.
- [3] 顾利红, 毕福钧, 陈 藹. 不同来源救必应药材的质量评价 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 622-625.
- [4] 王军宪, 张元媛, 贾晓妮, 等. HPLC 法测定救必应药材中紫丁香苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(5): 788-789.
- [5] Choi J, Shin K M, Park H J, *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive effects of sinapyl alcohol and its glucoside syringin [J]. *Planta Med*, 2004, 70(11): 1027-1032.
- [6] Niu H S, Liu I M, Cheng J T, *et al.* Hypoglycemic effect of syringin from *Eleutherococcus senticosus* in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Planta Med*, 2008, 74(2): 109-113.
- [7] 宋媛媛, 周 越, 孙守兵, 等. 丁香苷对免疫功能低下小鼠的免疫调节作用 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(2): 44-47.
- [8] Park H, Lee K, Juno W, *et al.* Protective effects or syringin isolated from *Kalopanax pictus* on galactosamine induced hepatotoxicity [J]. *Nat Med*, 1999, 53: 113-117.
- [9] M H, Z S Y, M S, *et al.* Metabolism of paeoniflorin and related compounds by human intestinal bacteria [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(9): 3838-3846.
- [10] 赵钟祥, 李美芬, 林朝展, 等. 大鼠肠内菌对毛冬青皂苷 ilex saponin A₁ 的代谢转化 [J]. 中国药科大学学报, 2011: 329-332.
- [11] Mitsuoka T. *A Color Atlas Of Anaerobic Bacteria* [M]. Tokyo: Sobunsa, 1980.
- [12] 宋 洋, 冯雪松. 无梗五加根化学成分的 UPLC-MS/MS 分析及与细柱五加, 刺五加的比较 [J]. 药物分析杂志, 2014, 34(6): 958-965.
- [13] Kobashi K, Akao T. Relation of intestinal bacteria to pharmacological effects of glycosides [J]. *Biosci Microflora*, 1997, 16(1): 1-7.
- [14] Mekhelfi T, Kerbab K, Guella G, *et al.* Phytochemical constituents of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. from Algeria [J]. *Der Pharm Lett*, 2014, 6(1): 152-156.
- [15] Katayama T, Ogaki A. Biosynthesis of (+)-syringaresinol in *Liriodendron tulipifera* I: feeding experiments with L-[U-¹⁴C] phenylalanine and [8-¹⁴C] sinapyl alcohol [J]. *J Wood Sci*, 2001, 47(1): 41-47.
- [16] Jeong H G, Kang M J, Kim H G, *et al.* Role of intestinal microflora in xenobiotic-induced toxicity [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(1): 84-99.
- [17] Miyazawa M, Utsunomiya H, Inada K I, *et al.* Inhibition of *Helicobacter pylori* motility by (+)-syringaresinol from unripe Japanese apricot [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(1): 172-173.
- [18] Chung B H, Kim S, Kim J D, *et al.* Syringaresinol causes vasorelaxation by elevating nitric oxide production through the phosphorylation and dimerization of endothelial nitric oxide synthase [J]. *Exp Mol Med*, 2011, 44(3): 191-201.
- [19] Ouyang M A, Wein Y S, Zhang Z K, *et al.* Inhibitory activity against tobacco mosaic virus (TMV) replication of pinosresinol and syringaresinol lignans and their glycosides from the root of *Rhus javanica* var. *roxburghiana* [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(16): 6460-6465.
- [20] Lyu S Y. Reviews: Modulation of IL-12 and IFN- γ secretions by eleutheroside E, tortoside A, and syringaresinol from *Acanthopanax Koreanum* Nakai [J]. *Biomol Ther*, 2010, 18(2): 211-218.