

筒鞘蛇菰中木脂素类成分及其抗炎活性研究

魏江春, 王安华, 贾景明*

沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 目的 研究筒鞘蛇菰 *Balanophora involucre* 全植株的化学成分。方法 利用聚酰胺, 正、反相硅胶柱, MCI 及半制备型 HPLC 等进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构, 并以脂多糖 (LPS) 诱导小鼠单核-巨噬细胞 (RAW264.7) 建立细胞炎症模型, 分别采用 Griess 法和酶联法检测一氧化氮 (NO) 和白细胞介素-6 (IL-6) 以评价化合物的抗炎活性。结果 从筒鞘蛇菰全植株 75%乙醇提取物分离得到 11 个木脂素类化合物, 分别鉴定为 (+)-松脂素 (1)、(+)-5'-hydroxypinoresinol (2)、异落叶松脂醇 4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (3)、(+)-异落叶松脂素 (4)、burselignan (5)、(+)-9-acetoxysolariciresinol (6)、yunnanensin A (7)、(-)-开环异落叶松脂素-4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (8)、(-)-开环异落叶松脂素 (9)、二氢葎澄茄素 (10)、secoisolariciresinol-9'-acetate (11)。结论 化合物 11 为新的天然产物, 化合物 2、5、7、8、10 首次从该属植物中分离得到。所有化合物均表现出较强的抗炎活性。

关键词: 筒鞘蛇菰; 木脂素; 抗炎; 一氧化氮; 白细胞介素-6; (-)-开环异落叶松脂素-4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷; 二氢葎澄茄素
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)08-1915-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.08.021

Lignan constituents from *Balanophora involucre* and their anti-inflammatory activities

WEI Jiang-chun, WANG An-hua, JIA Jing-ming

School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in the whole herb of *Balanophora involucre*. **Methods** The compounds were isolated and purified using polyamide, silica gel column, ODS, MCI gel, and semi-preparative HPLC, and their structures were elucidated by means of physicochemical properties and spectroscopic analysis. The anti-inflammatory activities of all the isolated compounds were evaluated using Griess method and ELISA for the determination of LPS-induced NO and IL-6 releases in inflammation cell model induced by LPS. **Results** Eleven lignans were isolated from 75% ethyl alcohol extract from the whole herb of *B. involucre* and identified as (+)-pinoresinol (1), (+)-5'-hydroxypinoresinol (2), isolariciresinol 4-*O*- β -D-glucopyranoside (3), (+)-isolariciresinol (4), burselignan (5), (+)-9-acetoxysolariciresinol (6), yunnanensin A (7), (-)-secoisolariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside (8), (-)-secoisolariciresinol (9), dihydrocubebin (10), and secoisolariciresinol-9'-acetate (11). **Conclusion** Among them, compound 11 is a new natural product, and compound 2, 5, 7, 8, and 10 are isolated from the genus of *Balanophora* for the first time. All compounds showed strong anti-inflammatory activities.

Key words: *Balanophora involucre* Hook. f.; lignan; anti-inflammatory activity; NO; IL-6; (-)-secoisolariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside; dihydrocubebin

筒鞘蛇菰 *Balanophora involucre* Hook. f. 为蛇菰科 (Balanophoraceae) 蛇菰属 *Balanophora* Forst. et Forst. f. 多年生草本寄生植物, 是土家族四大名药 (筒鞘蛇菰、南方山荷叶、延龄草、七叶一枝花) 之一, 又名文王一支笔、鹿仙草。筒鞘蛇菰主要分布于湖北、湖南、江西、广西、四川、云南, 常寄生

于杜鹃以及苦楝的根上^[1]。其全草入药, 在民间被用来治疗胃痛、外伤出血、哮喘、痢疾、月经不调和痔疮^[2]。木脂素类化合物是蛇菰属植物中含量相对较高的一类成分^[3-4], 且文献报道木脂素类化合物在抗炎^[5]、抗菌^[6]、抗氧化^[7]和降糖^[8]方面都表现出较好的活性。本实验对筒鞘蛇菰进行了系统的化学成

收稿日期: 2019-01-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81473423)

*通信作者 贾景明, 教授, 研究方向为中药资源及有效成分代谢调控。E-mail: jiajingming@163.com

分研究,从中分离得到 11 个木脂素类化合物,分别鉴定为 (+)-松脂素 [(+)-pinoresinol, 1]、(+)-5'-hydroxypinoresinol (2)、isolariciresinol 4-*O*- β -*D*-glucopyranoside (3)、(+)-异落叶松脂素 [(+)-isolariciresinol, 4]、burselignan (5)、(+)-9-acetoxyisolariciresinol (6)、yunnanensin A (7)、(-)-开环异落叶松脂素-4-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 [(-)-secoisolariciresinol-4-*O*- β -*D*-glucopyranoside, 8]、开环异落叶松脂素 [(-)-secoisolariciresinol, 9]、二氢萆澄茄素 (dihydrocubebin, 10)、secoisolariciresinol-9'-acetate (11)。化合物 11 为新的天然产物,化合物 2、5、7、8、10 首次从该属中分离得到。采用 MTT 法评估了所有化合物对小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 的细胞毒活性,结果显示所有化合物在一定的浓度范围内 (1.562 5~50 μ mol/L) 均无细胞毒性。分别采用 Griess 法和酶联法,评估了所有化合物对脂多糖 (LPS) 诱导 RAW264.7 细胞释放炎症因子一氧化氮 (NO) 和白细胞介素-6 (IL-6) 的抑制作用,结果显示大多数化合物均表现出较强的抑制作用。

1 仪器与材料

AAPI 3200 质谱仪 (美国 SCIEX 公司); Bruker 601 型核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); JASCO V-650 紫外-可见分光光度仪 (日本 JASCO 公司); UltiMate 3000 分析型高效液相色谱仪 (美国 Thermo 公司); Waters 2545 全自动制备型 HPLC 仪、Waters RP C18 色谱柱 (美国 Waters 公司)。ODS 柱色谱填料、制备型 YMC-Pack ODS-A C₁₈ 色谱柱 (日本 YMC 公司); 硅胶 GF₂₅₄ 薄层预制板 (烟台化学工业研究所); 聚酰胺填料 (60~80 μ m, 山东禹王实业有限公司); MCI 树脂填料 (75~150 μ m, 赛谱锐思科技有限公司); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); 所用色谱级甲醇和乙腈均购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 水 (杭州娃哈哈集团有限公司); 其余试剂均为分析纯 (天津科密欧化学试剂有限公司)。

实验用筒鞘蛇菰于 2015 年 7 月 28 日—30 日采于我国湖北神农架林区,经江西中医药大学刘勇教授鉴定为蛇菰科植物筒鞘蛇菰 *Balanophora involucre* Hook. f. 的全株。

2 提取与分离

干燥筒鞘蛇菰全株 2.5 kg, 粉碎, 用 75%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 提取液经石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取后, 取醋酸乙酯部位 (316 g)

经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (50:1、30:1、20:1、15:1、10:1、6:1、3:1、1:1) 梯度洗脱, 通过薄层色谱检识合并样品后, 进行减压浓缩得到 32 个组分 Fr. 1~32。Fr. 3 (5.23 g) 经中压反相 ODS 色谱分离 [流动相为甲醇-水 30:70 $\rightarrow$ 70:30, 0.03%三氟乙酸 (TFA), 300 min, 体积流量 15.0 mL/min], 得到 29 个亚组分 (P.1~29); P.7 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为甲醇-水 25:75, 0.03% TFA, 体积流量 8.0 mL/min), 得到化合物 1 (3.8 mg, 保留时间 t_R =38.5 min)。P.11 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为甲醇-水 30:70, 0.03% TFA, 体积流量 8.0 mL/min), 得到化合物 2 (19.11 mg, t_R =51.3 min)。P.14 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为甲醇-水 35:65, 0.03% TFA, 体积流量 8.0 mL/min), 得化合物 6 (629 mg, t_R =24.3 min)。P.18 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为甲醇-水 36:65, 0.03% TFA, 35%, 体积流量 8.0 mL/min), 得到化合物 4 (2.2 mg, t_R =28.2 min)、7 (7.43 mg, t_R =33.9 min)。P.24 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为甲醇-水 60:40, 0.03% TFA, 体积流量 8.0 mL/min), 得化合物 10 (72.31 mg, t_R =30.8 min)。P.16 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为甲醇-水 40:60, 0.03% TFA, 体积流量 8.0 mL/min), 得到化合物 9 (2.8 mg, t_R =23.1 min)、11 (3.5 mg, t_R =30.8 min)。Fr. 4 (8.12 g) 经中压反向 ODS 色谱分离 (流动相为甲醇-水 30:70 $\rightarrow$ 60:40, 0.03% TFA, 体积流量 15.0 mL/min), 得到 18 个亚组分 (Q.1~18)。Q.10 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为甲醇-水 40:60, 0.03% TFA, 体积流量 8.0 mL/min), 得到化合物 5 (21.1 mg, t_R =31.5 min)。取正丁醇部位 (330 g) 经聚酰胺柱色谱, 乙醇-水 (0:100、30:70、60:40、5:95) 梯度洗脱, 共得到 4 个组分 (Fr. H₂O-a、30%-a、60%-a、95%-a)。取组分 Fr. H₂O-a (111.4 g) 经 MCI 柱色谱, 乙醇-水 (0:100、30:70、50:50、75:25、5:95) 梯度洗脱, 共得到 6 个亚组分 (Fr. H₂O-b1、H₂O-b2、30%-b、50%-b、75%-b、95%-b)。亚组分 Fr. H₂O-b2 (17.27 g) 经中压反向 ODS 色谱分离 (流动相为甲醇-水 5:95 $\rightarrow$ 100:0, 0.03% TFA, 240 min, 体积流量 15.0 mL/min), 通过薄层色谱检识合并样品后, 得到 4 个亚组分 (Fr. A~D)。Fr. B 经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (50:1、30:1、20:1、15:1、10:1、6:1、3:1、1:1) 梯度洗脱, 通过薄层色谱检识合并

样品后, 进行减压浓缩得到 19 个亚流分 (Fr. B1~B19)。Fr. B9 经制备型反向 HPLC 分离 (流动相为 甲醇-水 20 : 80, 0.03% TFA, 体积流量 8.0 mL/min), 得到化合物 **3** (4.7 mg, t_R = 29.1 min)、**8** (2.5 mg, t_R = 49.2 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 381.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{22}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.88 (2H, d, J = 1.8 Hz, H-2, 2'), 6.75 (2H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6, 6'), 6.72 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-5, 5'), 4.06 (2H, d, J = 4.2 Hz, H-7, 7'), 3.76 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 4.11 (2H, dd, J = 9.0, 7.2 Hz, H-9a, 9'a), 3.71 (2H, dd, J = 9.6, 3.6 Hz, H-9b, 9'b), 3.03 (2H, m, H-5, 5'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 谱数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **1** 为 (+)-pinoresinol。

化合物 **2**: 黄色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 397.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{22}O_7$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.88 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.75 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6), 6.72 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 6.42 (1H, dd, J = 1.8 Hz, H-6'), 6.41 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 4.58 (1H, d, J = 4.2 Hz, H-7'), 4.54 (1H, m, J = 4.2 Hz, H-7), 4.11 (1H, m, H-9a), 4.11 (1H, m, H-9'a), 3.76 (3H, s, 3-OCH₃), 3.74 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.71 (1H, dd, J = 9.6, 3.6 Hz, H-9b), 3.71 (1H, m, H-9'b), 2.99 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为 (+)-5'-hydroxy-pinoresinol。

化合物 **3**: 黄色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 545.21 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{26}H_{34}O_{11}$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.69 (1H, s, H-2), 6.67 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.66 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-5'), 6.50 (1H, dd, J = 9.6, 1.8 Hz, H-6'), 6.32 (1H, s, H-5), 4.55 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-1''), 3.78 (1H, d, J = 12.6 Hz, H-7'), 3.72 (3H, s, 3-OCH₃), 3.70 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.63 (1H, m, H-6''e), 3.57 (2H, m, H-9), 3.43 (2H, m, H-9'), 3.34 (1H, m, H-6''a), 3.29 (1H, m, H-5''), 3.28 (1H, m, H-3''), 3.24 (1H, m, H-2''), 3.14 (1H, m, H-4''), 1.86 (1H, m, H-8'), 1.70 (1H, t, J = 12.0 Hz, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为 isolariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside。

化合物 **4**: 黄色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 383.12 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{24}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.74 (1H, brs, OH), 8.43 (1H, brs, OH), 6.69 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5'), 6.65 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.61 (1H, s, H-2), 6.50 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz, H-6'), 6.10 (1H, s, H-5), 3.75 (1H, d, J = 10.2 Hz, H-7'), 3.70 (3H, s, 3-OCH₃), 3.70 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.58 (1H, d, J = 10.2, 4.2 Hz, H-9a), 3.44 (1H, m, H-9b), 3.43 (1H, dd, J = 10.8, 3.6 Hz, H-9'a), 3.17 (1H, m, H-9'b), 2.68 (2H, dd, J = 12.7, 7.4 Hz, H-7), 1.85 (1H, m, H-8'), 1.62 (1H, t, J = 10.2 Hz, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为 (+)-isolariciresinol。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 383.15 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{24}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.69 (1H, brs, OH), 8.52 (1H, brs, OH), 6.73 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.65 (1H, s, H-2), 6.59 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.26 (1H, s, H-5), 6.25 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6'), 4.21 (1H, d, J = 4.8 Hz, H-7'), 3.73 (3H, s, 3-OCH₃), 3.67 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.43 (1H, dd, J = 10.2, 6.0 Hz, H-9a), 3.40 (1H, dd, J = 10.8, 4.8 Hz, H-9'a), 3.31 (1H, dd, J = 10.8, 6.0 Hz, H-9'b), 3.04 (1H, dd, J = 10.2, 9.0 Hz, H-9b), 2.80 (1H, dd, J = 16.8, 5.4 Hz, H-7), 2.53 (1H, dd, J = 16.8, 5.4 Hz, H-7), 1.87 (1H, m, H-8'), 1.80 (1H, m, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为 burselignan。

化合物 **6**: 淡黄色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 425.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{22}H_{26}O_7$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.71 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5'), 6.65 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.62 (1H, s, H-2), 6.48 (1H, dd, J = 7.8, 1.8 Hz, H-6'), 6.08 (1H, s, H-5), 4.25 (1H, dd, J = 10.8, 3.6 Hz, H-9a), 4.00 (1H, dd, J = 10.8, 3.0 Hz, H-9b), 3.71 (3H, s, 3-OCH₃), 3.70 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.69 (1H, m, H-7), 3.68 (1H, m, H-9'a), 3.43 (1H, m, H-9'b), 2.07~2.14 (1H, m, H-8), 2.71~2.77 (2H, m, H-7'), 2.00 (3H, s, 9-COCH₃), 1.66 (1H, m, H-8'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **6** 为 (+)-9-acetoxyisolariciresinol。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 445.1

表 1 化合物 1~11 的 ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 谱数据
Table 1 ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) data of compounds 1—11

碳位	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	132.2	133.2	130.1	132.7	126.7	137.2	135.4	135.3	132.7	135.3	131.6
2	110.4	110.4	112.2	111.8	111.7	113.2	113.1	113.3	113.3	109.2	112.8
3	147.5	147.5	147.2	147.4	146.2	145.5	144.4	148.7	147.7	147.0	147.3
4	145.7	145.9	144.1	144.1	144.2	144.7	147.5	144.6	144.7	145.0	144.5
5	115.1	115.1	116.6	116.3	116.1	115.3	115.5	115.2	115.5	107.8	115.2
6	118.7	118.6	132.6	121.5	131.6	127.2	121.4	121.1	121.6	121.7	121.7
7	85.2	85.2	32.1	32.4	31.9	45.6	46.5	33.9	34.4	33.8	33.7
8	53.6	53.7	38.0	38.1	33.5	45.8	42.9	42.5	42.9	42.7	42.6
9	70.2	71.0	63.5	63.6	63.3	66.4	63.1	60.2	60.7	60.1	60.3
1'	132.2	132.2	136.3	137.2	134.1	132.7	125.7	132.2	132.7	135.3	131.2
2'	110.4	101.4	113.3	113.2	111.7	111.8	131.6	113.0	113.3	109.2	112.8
3'	147.5	148.3	146.7	145.5	146.6	147.4	116.0	147.2	147.7	147.0	147.3
4'	145.7	131.6	144.7	144.7	144.5	144.1	145.0	144.3	144.7	145.0	144.4
5'	115.1	145.6	115.2	115.3	114.7	116.3	145.8	115.1	115.5	107.8	115.1
6'	118.7	118.7	121.4	127.2	122.5	121.5	111.7	121.0	121.6	121.7	121.7
7'	85.2	85.2	45.9	46.0	44.1	46.0	32.0	33.9	34.4	33.8	33.6
8'	53.6	53.6	45.3	46.0	43.1	42.6	35.5	42.4	42.9	42.7	39.0
9'	70.2	70.9	59.4	59.8	60.6	59.4	66.1	60.2	60.7	60.1	64.3
3-OCH ₃	55.6	55.6	55.6	55.5	55.4	55.5	55.7	55.6	55.9		55.4
3'-OCH ₃	55.8	55.8	55.7	55.7	55.6	55.7	55.5	55.5	55.9		55.4
9-CO						170.6	170.5				
9'-CO							170.5				170.5
9-COCH ₃						20.8	20.7				
9'-COCH ₃							20.6				20.8
1''			100.2					100.4			
2''			73.0					73.2			
3''			76.5					76.9			
4''			68.6					69.7			
5''			76.8					77.0			
6''			60.0					60.7			
-OCH ₂ O-										100.5	

$[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_8$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.71 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.64 (1H, s, H-2'), 6.63 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.50 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, H-6), 6.08 (1H, s, H-5'), 4.13 (1H, dd, $J = 11.4, 4.8$ Hz, H-9'), 3.99 (1H, dd, $J = 10.8, 6.6$ Hz, H-9'), 3.93 (1H, dd, $J = 11.7, 3.0$ Hz, H-9a), 3.78 (1H, dd, $J = 7.2, 4.2$ Hz, H-9b), 3.71 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.70 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-7), 3.69 (3H, s, 3-OCH₃), 2.72

(1H, dd, $J = 15.6, 4.8$ Hz, H-7'a), 2.68 (1H, dd, $J = 15.6, 4.8$ Hz, H-7'b), 2.02 (3H, s, 9'-COCH₃), 2.00 (3H, s, 9-COCH₃), 1.87 (1H, m, H-8), 1.80 (1H, t, H-8'); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 谱数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 7 为 yunnanensin A。

化合物 8: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 523.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 。 ^1H -NMR (600 MHz,

DMSO- d_6) δ : 7.03 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-5), 6.76 (1H, brs, H-5'), 6.69 (1H, brd, $J = 9.6$ Hz, H-6), 6.64 (1H, brs, H-2'), 6.61 (1H, brs, H-6'), 6.51 (1H, brs, H-2), 4.82 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-1''), 3.69 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.45 (2H, m, H-9), 3.38 (2H, m, H-9'), 3.12~3.90 (6H, m, H-2'~6'), 2.56 (1H, m, H-7a), 2.53 (1H, m, H-7'a), 2.52 (1H, m, H-7b), 2.45 (1H, m, H-7'b), 1.83 (1H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 谱数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **8** 为 (-)-secoisolariciresinol 4-*O*- β -D-glucopyranoside。

化合物 **9**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 361.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₀H₂₆O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.66 (2H, brs, 4, 4'-OH), 6.64 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5, 5'), 6.61 (2H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2, 2'), 6.50 (2H, dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, H-6, 6'), 3.68 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 3.39 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.30 (2H, m, H-9b, 9'b), 2.55 (2H, m, H-7a, 7'a), 2.47 (2H, m, H-7b, 7'b), 1.82 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **9** 为 (-)-secoisolariciresinol。

化合物 **10**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 359.3 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₀H₂₂O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.77 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5, 5'), 6.65 (2H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2, 2'), 6.57 (2H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-6, 6'), 5.95 (4H, s, -OCH₂O-), 3.38 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.34 (2H, m, H-9b, 9'b), 2.55 (2H, dd, $J = 13.8, 6.6$ Hz, H-7a, 7'a), 2.45 (2H, dd, $J = 13.8, 7.8$ Hz, H-7e, 7'e), 1.81 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **10** 为 dihydrocubebin。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 403.5 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₂H₂₈O₇。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.68 (1H, brs, 4-OH), 8.66 (1H, brs, 4-OH), 6.65 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 6.64 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 6.62 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2'), 6.61 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2), 6.50 (1H, dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, H-6), 6.49 (1H, dd, $J = 7.8, 1.2$ Hz, H-6'), 4.06 (1H, dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz, H-9'), 3.88 (1H, dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz, H-9'), 3.70 (3H, s, 3-OCH₃), 3.70 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.43 (1H, m, H-9), 3.30 (1H, m, H-9), 2.64 (1H, dd, $J = 13.8, 6.6$ Hz, H-7'), 2.53 (1H, dd, $J = 13.8, 6.6$ Hz, H-7'), 2.46 (1H, dd, $J = 13.8, 7.8$ Hz,

H-7), 2.42 (1H, dd, $J = 13.8, 8.4$ Hz, H-7), 1.85 (1H, m, H-8'), 1.79 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) 谱数据见表 1。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **11** 为 secoisolariciresinol-9'-acetate。经 SciFinder 检索发现, 该化合物首次从植物中分离得到, 为 1 个新的天然产物,

4 抗炎活性测试

筒鞘蛇菰在土家族作为抗炎镇痛药广泛应用, 且效果显著, 所以本课题采用 LPS 诱导下的 RAW264.7 细胞模型筛选木脂素类化合物的抗炎活性。

采用 MTT 法评估了 11 个化合物对细胞活力的影响, 结果显示所有化合物在一定的浓度范围内 (1.562 5~50 μ mol/L) 均无细胞毒性。分别采用 Griess 法和酶联法, 米诺环素作为阳性对照, 评估了 11 个化合物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞释放炎症因子 NO 和 IL-6 的抑制作用, 结果显示大多数化合物均表现出较强的抑制作用 (表 2)。从活性测试结果可以看出, 推测骈双四氢呋喃类木脂素抑制 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症因子 NO 和 IL-6 的释放的效果最好。比较化合物 **1** 和 **2**, 可以初步推测苯环的间位羟基和甲氧基取代也可能是增加骈双四氢呋喃类木脂素活性的重要位点。对于芳基四氢萘类木脂素, 手性中心 (7'S) 优于 (7'R); 4 位葡萄糖苷化可增加其活性, 猜测由于苷化后的木脂素同时含有亲水部位和疏水部位, 更容易被细胞吸收而

表 2 化合物 1~11 对 NO 和 IL-6 的抑制效果

Table 2 Inhibitory effects of compounds 1—11 on NO and IL-6

化合物	IC ₅₀ /(μ mol·L ⁻¹)	
	NO	IL-6
1	19.51±1.05	>50
2	42.15±0.31	39.21±2.71
3	39.51±3.24	>50
4	>50	>50
5	41.58±2.35	38.45±2.51
6	46.12±1.58	>50
7	31.54±1.14	16.12±2.34
8	12.35±2.07	34.51±3.42
9	21.54±1.28	>50
10	25.24±3.15	15.42±1.71
11	22.48±1.59	28.14±1.54
米诺环素	0.83±0.06	1.58±0.21

发挥作用; 9 位和 9'位乙酰化可能是其抗炎活性的药效基团。对于二苄基丁烷类木脂素, 同样可以推测 4 位葡萄糖苷化、9 位和 9'位乙酰化对于其抗炎效果发挥了很大的作用。

参考文献

- [1] 米长忠, 周卫华, 彭英福, 等. 湘西产筒鞘蛇菰生态环境及寄主植物初探 [J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(11): 38-39.
- [2] 陈宗海, 郭婧仪, 何静雯, 等. 筒鞘蛇菰化学成分及生物活性研究进展 [J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2015, 32(4): 72-74.
- [3] 陶汝俊, 徐湘婷. 蛇菰属植物化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(7): 73-78.
- [4] 徐海云, 杨尚军, 白少岩. 筒鞘蛇菰化学成分研究 [J]. 食品与药品, 2015, 17(1): 14-16.
- [5] Zhang Y J, Wang K, Chen H C, *et al.* Anti-inflammatory lignans and phenylethanoid glycosides from the root of *Isodon ternifolius* (D. Don) Kudo [J]. *Phytochemistry*, 2018, 153: 36-47.
- [6] Christov R, Bankova V, Tsvetkova I, *et al.* Antibacterial furofuran lignans from Canary Islands propolis [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70(1): 89-92.
- [7] Woo K W, Suh W S, Subedi L, *et al.* Bioactive lignan derivatives from the stems of *Firmiana simplex* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(3): 730-733.
- [8] Xu Z H, Ju J X, Wang K, *et al.* Evaluation of hypoglycemic activity of total lignans from *Fructus Arctii* in the spontaneously diabetic Goto-Kakizaki rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 548-555.
- [9] 赵明, 韩晶, 吕嵩岩, 等. 紫丁香树枝化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 251-254.
- [10] Mitsuo M, Hiroyuki K, Hiromu K. Biotransformation of lignans: A specific microbial oxidation of (+)-eudesmin and (+)-magnolol by *Aspergillus niger* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(6): 1501-1507.
- [11] Kim M H, Jang J H, Oh M H, *et al.* The comparison of DPPH-scavenging capacity and anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the stems of *Stewartia koreana* Nakai [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(17): 1409-1412.
- [12] 邓安琪, 张海婧, 张志辉, 等. 巨峰葡萄籽抗氧化活性成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4208-4211.
- [13] Jutiviboonsuk A, Zhang H J, Ma C Y, *et al.* Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis* [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(23): 2745-2751.
- [14] Pullela S V, Takamatsu S, Khan S I, *et al.* Isolation of lignans and biological activity studies of *Ephedra viridis* [J]. *Planta Med*, 2005, 71(8): 789-791.
- [15] 张迪, 倪刚, 唐源江. 紫薇茎叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2209-2211.
- [16] 梁永红, 叶敏, 韩健, 等. 骨碎补的木脂素和黄酮类成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 25-30.
- [17] 陈林, 王琦, 吴蓓, 等. 百尾参化学成分的分离与鉴定 (II) [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4803-4807.
- [18] 赵小静. 蒙药山沉香化学成分及生物活性初步研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
- [19] Shuichi Y, Angelika O, Bernd R T, *et al.* Lignans in resin of *Araucaria angustifolia* by gas chromatography/mass spectrometry [J]. *J Mass Spectr*, 2004, 39(11): 1337-1347.