

玉兰叶中 1 个新的四氢呋喃型木脂素

谢章巧^{1,2}, 丁林芬^{1,2*}, 聂伟^{1,2}, 雷铁^{1,2}, 吴双凤¹, 宋流东^{1*}, 吴兴德^{2*}

1. 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500

2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201

摘要: 目的 研究玉兰 *Magnolia denudata* 叶的木脂素类化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱以及半制备 HPLC 等色谱方法进行分离纯化, 根据波谱数据鉴定化合物的结构, 并采用脂多糖 (LPS) 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 生成模型对分离得到的化合物进行抗炎活性筛选。结果 从玉兰叶 95% 乙醇提取物中分离得到 2 个四氢呋喃型木脂素和 3 个苯并呋喃型木脂素, 分别鉴定为 (7*S*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-3,4,5-三甲氧基-3',4'-亚甲二氧基-7,7'-环氧木脂烷 (1)、蔚瑞昆森 (2)、liliflol A (3)、liliflol B (4) 和 5-methoxyliliflol B (5)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为玉兰木脂素 A, 化合物 5 为新天然产物, 同时首次报道化合物 3~5 的 ¹³C-NMR 数据。化合物 5 对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞释放 NO 具有一定的抑制作用, 在 50 μmol/L 浓度下其抑制率为 48.7%。

关键词: 玉兰; 四氢呋喃型木脂素; 苯并呋喃型木脂素; 玉兰木脂素 A; 抗炎活性; liliflol A; liliflol B; 5-methoxyliliflol B
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)22-5675-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.002

A new tetrahydrofuran-type lignan from leaves of *Magnolia denudata*

XIE Zhang-qiao^{1,2}, DING Lin-fen^{1,2}, NIE Wei^{1,2}, LEI Tie^{1,2}, WU Shuang-feng¹, SONG Liu-dong¹, WU Xing-de²

1. Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, School of Pharmaceutical Science, Kunming Medical University, Kunming 650500, China

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in Western China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: **Objective** To study the lignans in the leaves of *Magnolia denudata*. **Methods** The constituents were separated and purified by silica gel, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC. The structures were elucidated on the basis of spectroscopic data analysis. All compounds were evaluated for their inhibitory activity against LPS-activated NO production in RAW 264.7 cell model *in vitro*. **Results** Two tetrahydrofuran-type lignans and three dihydrobenzofuran-type lignans were isolated from 95% ethanol extract of *M. denudata*. Their structures were identified as (7*S*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-3,4,5-trimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7,7'-epoxylignan (1), veraguensin (2), liliflol A (3), liliflol B (4) and 5-methoxyliliflol B (5). **Conclusion** Compound 1 is a new compound and named as magnodatin A. Compound 5 is a new natural product. The ¹³C-NMR spectroscopic data of compounds 3—5 are reported for the first time. Compound 5 exhibited weak inhibitory effect on NO production in LPS-induced macrophages with a inhibition rate of 48.7% at 50 μmol/L.

Key words: *Magnolia denudata* Desr.; tetrahydrofuran-type lignan; dihydrobenzofuran-type lignan; magnodatin A; anti-inflammatory activity; liliflol A; liliflol B; 5-methoxyliliflol B

玉兰 *Magnolia denudata* Desr. 为木兰科 于江西、浙江、湖南、贵州, 生长在海拔 500~1 000 m (Magnoliaceae) 木兰属 *Magnolia* Linn. 落叶乔木, 产 的林中, 现作为观赏植物在全国各大城市广泛栽培^[1]。

收稿日期: 2020-07-22

基金项目: 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金 (2019FE001-028, 2017FE467-016); 云南省天然药物药理重点实验室开放基金课题 (70120030509); 云南省万人计划“教学名师”(宋流东) 资助项目

作者简介: 谢章巧 (1995—), 女, 从事药物化学研究。E-mail: 1227848803@qq.com

***通信作者** 吴兴德 (1984—), 男, 博士, 副研究员, 从事天然药物化学研究。E-mail: wuxingde@mail.kib.ac.cn

宋流东 (1966—), 男, 教授, 博士生导师, 从事天然药物化学研究。E-mail: ynsld@126.com

#并列第一作者 丁林芬 (1985—), 女, 在读博士, 高级实验师, 从事天然药物化学研究。E-mail: dinglinfen2007@163.com

玉兰木脂素是中药辛夷的重要来源之一,具有散风寒、通鼻窍的功效,可用于治疗风寒头痛、鼻塞流涕、鼻鼾、鼻渊^[2]。文献报道木脂素是该植物的主要特征成分,具有抗氧化、抗炎、抗血小板活化、减肥等作用^[3-10]。为促进玉兰植物资源的综合开发与利用,本实验对采自云南昆明的玉兰叶开展深入的化学成分研究,从中分离得到 5 个木脂素类化合物,分别鉴定为 (7*S*,7'*R*,8*S*,8'*S*)-3,4,5-三甲氧基-3',4'-二甲氧基-7,7'-环氧木脂烷 [7*S*,7'*R*,8*S*,8'*S*-3,4,5-trimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7,7'-epoxylignan, **1**]、蔚瑞昆森 (veraguensin, **2**)、liliflol A (**3**)、liliflol B (**4**) 和 5-methoxyliliflol B (**5**), 结构见图 1。其中化合物 **1** 为新化合物,命名为玉兰木脂素 A, 化合物 **5** 为新天然产物,并首次报道化合物 **3**~**5** 的 ¹³C-NMR 数据。体外活性评价表明,化合物 **2**、**3**、**5** 均具有不同程度的抗炎活性,在 50 μmol/L 的浓度下对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞生成 NO 的抑制率分别为 14.3%、21.7%、48.7%。

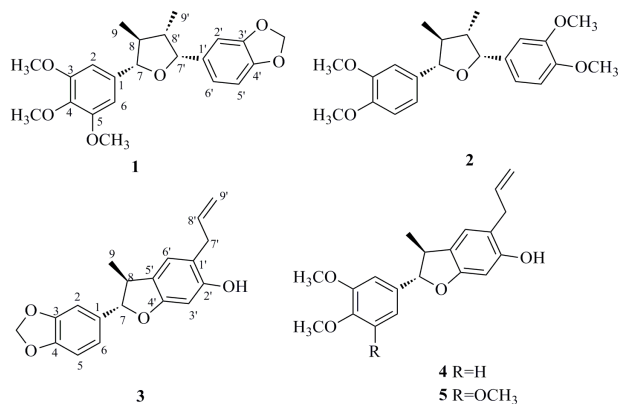


图 1 化合物 1~5 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—5

1 仪器与材料

Bruker Avance III 500 MHz (Bruker 公司, 瑞士); Bruker Tensor-27 傅里叶变换红外光谱仪 (Bruker 公司, 德国); Shimadzu UV-2401A 紫外可见分光光度计 (Shimadzu 公司, 日本); Jasco P-1020 全自动数字旋光仪 (Jasco 公司, 日本); Agilent 1260 高效液相色谱仪 (Agilent 公司, 美国); 色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈ (Agilent, 150 mm×9.4 mm, 5 μm, 美国); 柱色谱硅胶 (临沂市海祥化工厂, 100~200、200~300 目); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板 (临沂市海祥化工厂); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司, 瑞典); 显色剂 (10%硫酸乙醇溶液, 喷洒后适当加热); 色谱甲醇 (北京百灵威科技有限公司); 分析甲醇 (天

津市风船化学试剂科技有限公司); 所有溶剂均为工业溶剂重蒸后使用。小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 购自中国科学院上海细胞库, DMEM 培养基和胎牛血清购自美国 Hyclone 公司, Griess Reagent、LPS 和 MG132 购自 Sigma 公司。

玉兰于 2017 年 12 月采自云南昆明, 并由中国科学院昆明植物研究所成晓副研究员鉴定为玉兰 *Magnolia denudate* Desr 的干燥叶, 标本 (20170602m) 存放在中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部资源持续利用国家重点实验室。

2 提取与分离

玉兰干燥叶 2 kg, 粉碎后用 95%乙醇冷浸提取 (3 次×48 h), 合并提取液, 减压蒸馏除去有机溶剂, 将提取物分散于水中用醋酸乙酯萃取 3 次, 回收溶剂后, 得醋酸乙酯部分 60 g, 经反相 MCI 柱色谱, 以甲醇-水 (45:55→100:0) 梯度洗脱, 经 TLC 检测, 合并相同部分得 Fr. 1~14。Fr. 8 (2.5 g) 经正相硅胶柱色谱, 以氯仿-丙酮 (400:1→1:1) 洗脱得到 Fr. 8.1~8.7。Fr. 8.7 (346 mg) 进一步经正相硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (9:1) 洗脱得到 Fr. 8.7.1~8.7.4。Fr. 8.7.2 (213 mg) 经正相硅胶柱色谱 [石油醚-丙酮 (50:1)] 洗脱得到化合物 **3** (11.3 mg) 和 **4** (8.0 mg)。Fr. 8.7.3 (26 mg) 经 Sephadex LH-20 [氯仿-甲醇 (1:1)] 洗脱得到 **5** (6.4 mg)。Fr. 9 (1.9 g) 经正相硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (400:1→1:1) 洗脱得到 Fr. 9.1~9.6。Fr. 9.5 (54 mg) 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 洗脱得到 **2** (30.5 mg)。Fr. 9.6 (118.0 mg) 经正相硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (20:1) 洗脱, 再由甲醇溶解后, 经半制备 HPLC 色谱仪 [甲醇-水 (67:33, 3 mL/min)] 制备得化合物 **1** (1.3 mg, *t_R*=12.5 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物, $[\alpha]_D^{25.3}$ 56.0 (*c* 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 200 (4.09), 257 (3.49), 284 (3.87); ECD (*c* 0.65 mmol/L, MeOH) $\lambda_{\max}$ [$\Delta\epsilon/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$]: 209 (+4.83), 234 (+0.46), 279 (+0.26) nm。根据其 HRESIMS, 准分子离子峰为 *m/z*: 409.162 3 [*M*+Na]⁺, 计算值为 409.162 2) 和 ¹³C-NMR 数据推断其分子式为 C₂₂H₂₆O₆, 不饱和度为 10。在其 IR 光谱中显示该化合物存在特征的苯环 (1 591、1 505、1 456 cm⁻¹) 官能团信号峰。从 ¹H-NMR 谱 (表 1) 可知, 该化合物含有 1 组 ABX 系统芳香质子信号 [δ_{H} 6.89 (1H, s, H-2'), 6.77 (1H,

d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6'), 1 组对称芳香质子信号 [δ_{H} 6.73 (2H, s, H-2, 6)], 3 个甲氧基 [δ_{H} 3.90 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.86 (3H, s, 4-OCH₃)], 2 个甲基 [δ_{H} 1.08 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-9), 0.67 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-9')] 和 1 个亚甲二

氧基 [δ_{H} 5.95 (2H, s)]。¹³C-NMR 谱 (表 1) 显示了 22 个碳信号, 分别为 3 个甲氧基、2 个甲基、1 个亚甲二氧基、9 个次甲基 (包括 5 个 sp^2 杂化次甲基) 以及 7 个 sp^2 杂化的季碳。上述数据表明该化合物为四氢呋喃型木脂素。在 HMBC 谱 (图 2) 中 δ_{H} 3.90

表 1 化合物 1 和 2 的 ¹H- (500 MHz, CDCl₃) 和 ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 数据
Table 1 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) and ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) data of compounds 1 and 2

碳位	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		136.5		133.5
2	6.73 (1H, s)	103.4	7.07 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	110.0
3		153.2		148.6
4		137.4		148.6
5		153.2	6.88 (1H, d, $J = 8.1$ Hz)	111.0
6	6.73 (1H, s)	103.4	7.03 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz)	118.7
7	4.37 (1H, d, $J = 9.3$ Hz)	87.5	4.42 (1H, d, $J = 9.3$ Hz)	87.3
8	1.77 (1H, m)	48.1	1.79 (1H, m)	47.9
9	1.08 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)	15.1	1.07 (3H, d, $J = 6.6$ Hz)	15.0
1'		135.1		133.8
2'	6.89 (1H, s)	107.5	6.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz)	110.4
3'		147.5		148.9
4'		146.6		148.1
5'	6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)	107.8	6.84 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	110.7
6'	6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)	120.2	6.88 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz)	119.2
7'	5.11 (1H, d, $J = 8.7$ Hz)	83.2	5.13 (1H, d, $J = 8.7$ Hz)	83.1
8'	2.23 (1H, m)	46.0	2.25 (1H, m)	46.0
9'	0.67 (3H, d, $J = 7.0$ Hz)	14.9	0.66 (3H, d, $J = 7.0$ Hz)	15.1
3-OCH ₃	3.90 (3H, s)	56.1	3.86 (3H, s)	56.0
4-OCH ₃	3.86 (3H, s)	60.9	3.89 (3H, s)	55.9
5-OCH ₃	3.90 (3H, s)	56.1		
3'-OCH ₃			3.91 (3H, s)	55.9
4'-OCH ₃			3.87 (3H, s)	55.8
-OCH ₂ O-	5.95 (2H, s)	100.9		

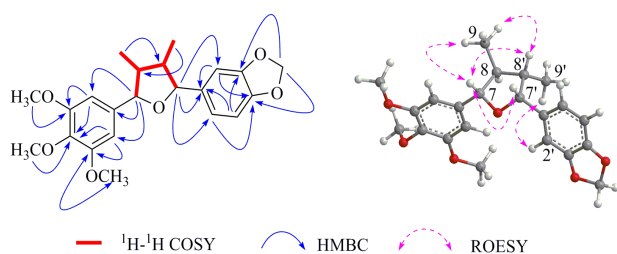


图 2 化合物 1 的 ¹H-¹H COSY、HMBC 及 ROESY 相关
Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY, HMBC, and ROESY correlations of compound 1

(3, 5-OCH₃) 与 δ_{C} 153.2 (C-3, 5), δ_{H} 3.86 (4-OCH₃) 与 δ_{C} 137.4 (C-4), δ_{H} 6.73 (H-2, 6) 与 δ_{C} 153.2 (C-3, 5), 137.4 (C-4) 有远程相关, 确定化合物 1 中 1 个芳环为 3, 4, 5-三甲氧基苯基。 δ_{H} 6.89 (H-2'), 6.77 (H-5'), 6.79 (H-6') 与 δ_{C} 135.1 (C-1'), δ_{H} 6.89 (H-2') 与 δ_{C} 146.6 (C-4'), δ_{H} 6.77 (H-5') 与 δ_{C} 147.5 (C-3'), δ_{H} 5.95 (-OCH₂O-) 与 δ_{C} 147.5 (C-3'), 146.6 (C-4') 的 HMBC 相关, 表明该化合物中另一个芳环为 3', 4'-亚甲二氧基苯基。¹H-¹H COSY 谱中 H-7/H-8/H-8'/H-7' 相关, 结合 C-7 (δ_{C} 87.5) 和 C-7' (δ_{C} 83.2) 位碳

谱数据和该化合物不饱和度分析, 可知化合物 **1** 含有 1 个四氢呋喃环。HMBC 谱(图 2)中 δ_{H} 4.37 (H-7) 与 δ_{C} 136.5 (C-1), 103.4 (C-2, 6)、 δ_{H} 5.11 (H-7') 与 δ_{C} 135.1 (C-1'), 107.5 (C-2'), 120.2 (C-6') 相关, 提示 3, 4, 5-三甲氧基苯基和 3', 4'-亚甲二氧基苯基分别连在 C-7 和 C-7' 位。H-8/H₃-9 和 H-8'/H₃-9' 的 ^1H - ^1H COSY 相关, 以及 δ_{H} 1.08 (H₃-9), 0.67 (H₃-9') 与 δ_{C} 48.1 (C-8), 46.0 (C-8') 的 HMBC 相关, 表明两个甲基分别连在 C-8 和 C-8' 位。因此, 化合物 **1** 的平面结构得到确定, 如图 2 所示。

化合物 **1** 的相对构型可通过分析 ROESY 谱加以确定。ROESY 谱中 H-7/H-7'、H-7/H₃-9、H-7/H-8'、H-2'/H₃-9'、H-8'/H₃-9 相关(图 2), 表明 H-7、H₃-9、H-7'、H-8' 在同一侧为 β 朝向, H₃-9' 在另一侧为 α 朝向。化合物 **1** 的绝对构型通过比较 **1** 和 **2** 的圆二色谱(ECD)数据得到确定。化合物 **2** 的结构在本研究中通过和文献中报道的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 数据比较确定为 veraguensin^[11-13], 并进一步通过 Cu-K α 单晶 X 衍射技术确定其绝对构型(图 3), Flack 系数为 0.05 (2)。化合物 **1** 和 **2** 圆二色谱图中 209 和 234 nm 附近均显示正的 Cotton 效应(图 4),

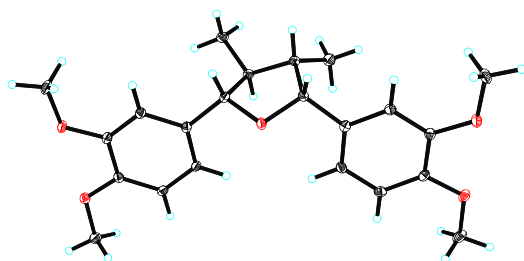


图 3 化合物 **2** 的单晶 X 衍射结构

Fig. 3 X-ray single-crystal structure of compound **2**

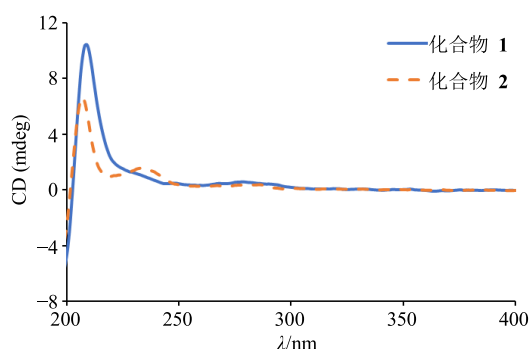


图 4 化合物 **1** 和 **2** 的 ECD 谱图

Fig. 4 Experimental ECD spectra of compounds **1** and **2**

可推测二者具有相同的绝对构型。因此, 化合物 **1** 的结构鉴定为 (7*S*, 7'*R*, 8*S*, 8'*S*)-3, 4, 5-三甲氧基-3', 4'-亚甲二氧基-7, 7'-环氧木脂烷, 并命名为玉兰木脂素 A。

化合物 **3** 和 **4** 曾在紫玉兰 *M. liliflora* Desr. 中分离得到, 通过与文献报道的 ^1H -NMR 和 MS 数据进行对比分析, 分别鉴定为 liliflol A 和 liliflol B^[14], 但未见其 ^{13}C -NMR 数据报道。本实验进一步利用 HSQC、HMBC、 ^1H - ^1H COSY、ROESY 谱图分析确证了化合物 **3** 和 **4** 的结构, 并首次报道其 ^{13}C -NMR 数据(表 2)。

化合物 **5**: 无色油状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{20.4}$ 52.3 (*c* 0.12, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} [$\log \epsilon/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$]: 205 (4.51), 258 (3.07), 292 (3.51) nm。根据其 HRESIMS (准分子离子峰为 m/z : 379.152 0 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺, 计算值为 379.151 6) 和 ^{13}C -NMR 数据推断其分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_5$, 不饱和度为 10。从 ^1H -和 ^{13}C -NMR 谱(表 2)可知, 该化合物含有 1 个甲基 [δ_{H} 1.39 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-9); δ_{C} 18.2 (C-9)], 3 个甲氧基 [δ_{H} 3.86 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.85 (3H, s, 4-OCH₃); δ_{C} 56.2 (3, 5-OCH₃), 60.9 (4-OCH₃)], 2 个亚甲基(含 1 个 sp^2 杂化亚甲基), 7 个次甲基(含 5 个 sp^2 杂化次甲基), 8 个 sp^2 杂化季碳, 上述数据分析表明该化合物为苯并二氢呋喃型木脂素。通过分析化合物 **5** 和 **3** 的 ^1H 和 ^{13}C -NMR 数据, 发现这 2 个化合物的结构相似, 二者的区别在于化合物 **5** 中 3, 4, 5-三甲氧基苯基取代了化合物 **3** 中 3, 4-亚甲二氧基苯基。HMBC 谱(图 6)中 δ_{H} 3.86 (3, 5-OCH₃) 与 δ_{C} 153.4 (C-3, 5), δ_{H} 3.85 (4-OCH₃) 与 δ_{C} 137.8 (C-4), δ_{H} 6.63 (H-2, 6) 与 δ_{C} 153.4 (C-3, 5), 137.8 (C-4) 相关证实上述推断。ROESY 谱(图 6)中 H-7 和 H₃-9 相关、H-2 和 H-8 相关, 说明 H-7 和 H₃-9 在同一侧, 均为 β 朝向。文献报道, Aiba 等^[15]通过 mirandin A 的化学转化合成过化合物 **5**, 但未见该化合物的碳谱数据报道。本研究首次从自然界中分离得到化合物 **5**, 其结构鉴定为 5-methoxyliliflol B, 并首次报道其 ^{13}C -NMR 数据。

4 化合物的抗炎活性

利用脂多糖(LPS)诱导刺激小鼠巨噬细胞 RAW264.7 为检测模型, 通过 MTT 法测试化合物 **2**~**5** 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下对 RAW264.7 的细胞毒性。进一步通过 Griess 法检测 NO 生成量^[16], 测试化合物 **2**~**5** 的抗炎活性。结果表明(表 3), 除化合物 **4** 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下对 RAW264.7 具有一定的细胞毒性, 化合物 **2**、**3**、**5** 对 LPS 诱导的

表 2 化合物 3~5 的 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) 和 ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) 数据
Table 2 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) and ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) spectral data of compounds 3–5

碳位	3		4		5	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		134.6		133.0		136.2
2	6.91 (1H, brs)	106.6	6.96 (1H, s)	109.1	6.63 (1H, s)	103.1
3		148.0		149.2		153.4
4		147.6		149.1		137.8
5	6.80 (1H, d, $J=8.0$ Hz)	108.2	6.86 (1H, d, $J=8.1$ Hz)	110.9		153.4
6	6.87 (1H, brd, $J=8.0$ Hz)	120.0	6.94 (1H, dd, $J=8.1, 1.9$ Hz)	118.9	6.63 (1H, s)	103.1
7	5.04 (1H, d, $J=8.6$ Hz)	93.2	5.06 (1H, d, $J=9.1$ Hz)	93.4	5.04 (1H, d, $J=9.0$ Hz)	93.5
8	3.32 (1H, m)	45.0	3.37 (1H, m)	44.9	3.37 (1H, m)	45.0
9	1.36 (2H, d, $J=6.8$ Hz)	18.2	1.36 (3H, d, $J=6.7$ Hz)	17.9	1.39 (3H, d, $J=6.7$ Hz)	18.2
1'		117.2		117.2		117.2
2'		154.4		154.4		154.4
3'	6.37 (1H, s)	98.0	6.39 (1H, s)	98.1	6.40 (1H, s)	98.1
4'		158.8		158.9		158.9
5'		124.0		124.2		124.0
6'	6.84 (1H, s)	124.8	6.84 (1H, s)	124.7	6.85 (1H, s)	124.7
7'	3.36 (2H, m)	35.0	3.37 (2H, m)	35.0	3.37 (2H, m)	35.1
8'	6.01 (1H, m)	137.0	6.01 (1H, m)	137.0	6.01 (1H, m)	136.9
9'	5.17 (1H, dd, $J=17.0, 1.4$ Hz)	116.2	5.18 (1H, dd, $J=17.2, 1.7$ Hz)	116.2	5.19 (1H, dd, $J=17.2, 1.7$ Hz)	116.3
	5.14 (1H, dd, $J=10.0, 1.4$ Hz)		5.15 (1H, dd, $J=10.2, 1.7$ Hz)		5.16 (1H, dd, $J=10.1, 1.7$ Hz)	
3-OCH ₃		3.89 (3H, s)		55.9	3.86 (3H, s)	56.2
4-OCH ₃		3.88 (3H, s)		56.0	3.85 (3H, s)	60.9
5-OCH ₃					3.86 (3H, s)	56.2
-OCH ₂ O-	5.96 (2H, s)	101.2				

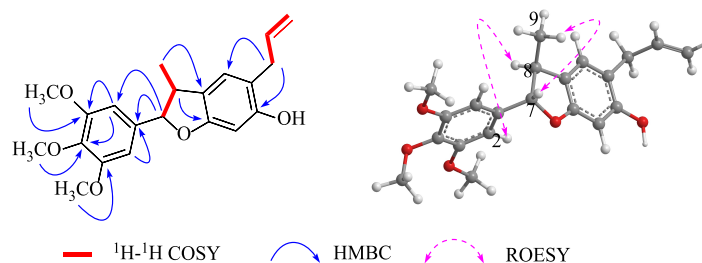


图 6 化合物 5 的 ^1H - ^1H COSY、HMBC 及 ROESY 相关

Fig. 6 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC, and ROESY correlations of compound 5

表 3 化合物 2~5 对 RAW264.7 细胞 NO 抑制率的影响及对细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Inhibitory effects of compounds 2–5 on NO production and cell viability in RAW264.7 cell ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物	抑制率/%	细胞存活率/%
2	14.3 $\pm$ 1.5	106.9 $\pm$ 1.3
3	21.7 $\pm$ 1.3	101.2 $\pm$ 1.9
4	64.6 $\pm$ 1.1	89.0 $\pm$ 1.0
5	48.7 $\pm$ 0.3	95.3 $\pm$ 2.5

RAW264.7 巨噬细胞释放 NO 均均有不同程度的抑制作用, 其抑制率分别为 14.3%、21.7%、48.7%。

5 化合物 2 单晶 X 衍射测定

化合物 2 为无色晶体, 采用 Bruker D8 Quest 单晶 X 衍射仪 (Cu K α , $\lambda=0.154\ 178\ \text{nm}$) 测定。实验用晶体大小为 (0.700 $\times$ 0.630 $\times$ 0.460) mm³, 分子式 C₂₂H₂₈O₅, M=372.44, 单斜晶系, 晶胞参数: $a=0.872\ 70(4)\ \text{nm}$, $b=0.762\ 66(4)\ \text{nm}$, $c=2.990\ 01(14)\ \text{nm}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=90.387\ 0(10)^\circ$, $\gamma=90^\circ$,

晶胞体积: $V=199.003(17)\text{ nm}^3$, 空间群为 P1211, 晶胞内分子数 $Z=4$, $F(000)=800$, 吸收系数 $\mu=0.707\text{ mm}^{-1}$, $T=100(2)\text{ K}$, 收集衍射点数为 35 995, 独立衍射点数 7 834 [$R(\text{int})=0.037\ 9$]. 基于 F^2 全矩阵最小二乘法进行修正, 最后修正值 $R_1=0.028\ 4$, $wR_2=0.076\ 3$ [$I>2\sigma(I)$]; 修正值 $R_1=0.028\ 5$, $wR_2=0.076\ 4$ (all data); 拟合优度检验 $F^2=1.066$, Flack 系数为 0.05 (2)。化合物 2 的 CIF 文件存放于英国剑桥单晶 X 衍射数据中心, CCDC 编号为 2002950。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1996.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] Iida T, Ichino K, Ito K. Neolignans from *Magnolia denudate* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(12): 2939-2941.
- [4] Du J, Wang M L, Chen R Y, et al. Chemical constituents from the leaves of *Magnolia denudate* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2001, 3(4): 313-319.
- [5] Li J, Tanaka M, Kurasawa K, et al. Lignan and neolignan derivatives from *Magnolia denudate* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(2): 235-237.
- [6] Noshita T, Funayama S, Hirakawa T, et al. Machilin G and four neolignans from young fruits of *Magnolia denudata* show various degrees of inhibitory activity on nitric oxide (NO) production. [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72(10): 2775-2778.
- [7] Chung C Y, Kuo W L, Hwang T L, et al. Biphenyl-type neolignan derivatives from the twigs of *Magnolia denudata* and their anti-inflammatory activity [J]. *Chem Biodivers*, 2015, 12(8): 1263-1270.
- [8] Kuroyanagi M, Yoshida K, Yamamoto A, et al. Bicyclo [3.2.1] octane and 6-oxabicyclo [3.2.2] nonane type neolignans from *Magnolia denudate* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(6): 832-837.
- [9] Kwon B M, Jung H J, Lim J H, et al. Acyl-CoA: Cholesterol acyltransferase inhibitory activity of lignans isolated from *Schizandra*, *Machilus* and *Magnolia* species [J]. *Planta Med*, 1999, 65(1): 74-76.
- [10] Kong C S, Lee J I, Kim J A, et al. *In vitro* evaluation on the antiobesity effect of lignans from the flower buds of *Magnolia denudate* [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(10): 5665-5670.
- [11] 郭群, 方红, 苏玮. 望春花中的木脂素类化学成分研究 [J]. 中草药, 2004, 35(8): 849-852.
- [12] Fonseca S F, Barata L E S, Rúveda, Edmundo A, et al. ^{13}C nuclear magnetic resonance spectral and conformational analysis of naturally occurring tetrahydrofuran lignans [J]. *Can J Chem*, 1979, 57(4): 441-443.
- [13] Barata L E S, Baker P M, Gottlieb O R, et al. Neolignans of *Viola surinamensis* [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17(4): 783-786.
- [14] Iida T, Ito K. Four phenolic neolignans from *Magnolia liliflora* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(3): 763-766.
- [15] Aiba C J, Gottlieb O R, Pagliosa F M, et al. Neolignans from *Nectandra miranda* [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16(6): 745-748.
- [16] Ding L F, Liu J X, Xie Z Q, et al. Magnograndins J-M, elemene sesquiterpenoids from the leaves of *Magnolia grandiflora* and their inhibitory effects on nitric oxide production [J]. *Phytochem Lett*, 2019, 31: 121-124.