

• 化学成分 •

怀菊花中 1 个新的没药烷型倍半萜

蔡雅君¹, 薛金凤^{1*}, 赵慧君³, 支燕乐¹, 卢纪衡¹, 陈 辉¹, 王彦志¹, 冯卫生¹, 薛贵民^{1,2*}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 豫药全产业链研发河南省协同创新中心河南省中药开发工程技术中心, 河南 郑州 450046

3. 郑州澍青医学高等专科学校, 河南 郑州 450046

摘要: 目的 研究怀菊花 *Chrysanthemum morifolium* 的化学成分。方法 采用硅胶、ODS、Sephadex LH-20 以及半制备 HPLC 等方法进行分离纯化, 根据波谱数据并结合文献对化合物结构进行鉴定。采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 模型, 以抑制炎症细胞因子一氧化氮 (NO) 的分泌为评价指标对分离得到的化合物进行体外抗炎活性评价。结果 从怀菊花二氯甲烷提取物中分离得到 7 个化合物, 分别为 (6*S*, 7*R*, 10*R*)-没药烷-7-羟基-10,11-环氧-4-酮 (1)、黑麦草内酯 (2)、(4*R*)-1-甲基-4-(1-羟基异丙基)环己烯-6-酮 (3)、2-甲氧基对苯二酚 (4)、4-(3-羟丙基)苯酚 (5)、5-(3-羟丙基)-2-甲氧基苯酚 (6)、4-甲基苯酚 (7)。结论 化合物 1 为新的没药烷型倍半萜, 命名为怀菊花没药烷 A。除化合物 2 外, 其余化合物均为首次从该属植物中分离得到。化合物 1 和 3 有显著 NO 抑制作用, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 9.2、38.9 μmol/L。

关键词: 怀菊花; 怀菊花没药烷 A; 倍半萜; 抗炎; (4*R*)-1-甲基-4-(1-羟基异丙基)环己烯-6-酮; 2-甲氧基对苯二酚

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2024)09-2863-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.09.001

A new bisabolane-type sesquiterpenoid from *Chrysanthemum morifolium*CAI Yajun¹, XUE Jinfeng¹, ZHAO Huijun³, ZHI Yanle¹, LU Jiheng¹, CHEN Hui¹, WANG Yanzhi¹, FENG Weisheng¹, XUE Guimin^{1,2}

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu-Yao, Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China

3. Zhengzhou Shuqing Medical College, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from *Chrysanthemum morifolium*. **Methods** The extract from *C. morifolium* was isolated and purified by silica gel column, ODS, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC. Their structures were identified by spectral analysis combined with literature. Inhibiting the secretion of inflammatory cytokine nitric oxide (NO) was used as the evaluating indicator, the model of lipopolysaccharide (LPS)-induced mouse macrophage RAW264.7 cells was used to evaluate the *in vitro* anti-inflammatory activity of isolated compounds. **Results** A total of seven compounds were obtained from the dichloromethane extract of *C. morifolium* and their structures were identified as (6*S*, 7*R*, 10*R*)-bisabolane-7-hydroxy-10,11-epoxide-4-one (1), loliolide (2), (4*R*)-1-methyl-4-(1-hydroxyisopropyl)cyclohexene-6-one (3), 2-methoxyhydroquinone (4), 4-(3-hydroxypropyl)phenol (5), 5-(3-hydroxypropyl)-2-methoxyphenol (6), 4-methylphenol (7). **Conclusion** Compound 1 is a new bisabolane-type sesquiterpenoid, named chrysabisabane A. All compounds except compound 2 were isolated from this genus for the first time. Compounds 1 and 3 showed a significant NO inhibition activity with median inhibition concentration (IC₅₀) values of 9.2 μmol/L and 38.9 μmol/L, respectively.

收稿日期: 2024-02-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003606); 河南省高校科技创新团队支持计划资助 (24IRTSTHN039)

作者简介: 蔡雅君 (1998—), 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: yajun027@163.com

*通信作者: 薛贵民 (1988—), 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: xueguimin123@126.com

薛金凤 (1987—), 实验师, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: xuejinfeng8804@126.com

Key words: *Chrysanthemum morifolium* Ramat.; chrysanthemane A; sesquiterpenes; anti-inflammation; (4*R*)-1-methyl-4-(1-hydroxyisopropyl)cyclohexene-6-one; 2-methoxyhydroquinone

菊花是菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序, 味甘苦, 微寒, 归肺、肝经, 具有疏散风热、平肝明目、清热解毒的功效^[1], 用于风热感冒、头痛眩晕、目赤肿痛, 是卫生部首批批准的药食同源的药材之一^[2]。我国药用菊花品种繁多, 分布广泛, 根据产地及加工方法不同, 分为亳菊、滁菊、贡菊、怀菊等道地药材^[3]。2020 年版中国药典收录“怀菊”“亳菊”“滁菊”“贡菊”“杭菊”共同作为“菊花”入药^[4]。怀菊花为“四大怀药”之一, 产于河南武陟县一带, 其栽培历史悠久, 是药用菊花的始祖。关于怀菊花化学成分研究主要集中在茎叶中化学成分的研究等方面, 而对头状花序中单体化合物的分离及活性研究甚少, 为了更好地阐明其化学成分组成和药理药效基础, 本实验对怀菊花化学成分进行了研究, 从中分离得到了 7 个化合物, 分别鉴定为 (6*S*,7*R*,10*R*)-没药烷-7-羟基-10,11-环氧-4-酮 [(6*S*,7*R*,10*R*)-bisabolane-7-hydroxy-10,11-epoxide-4-one, **1**]、黑麦草内酯 (loliolide, **2**)、(4*R*)-1-甲基-4-(1-羟基异丙基)环己烯-6-酮 [(4*R*)-1-methyl-4-(1-hydroxyisopropyl)cyclohexene-6-one, **3**]、2-甲氧基对苯二酚 (2-methoxyhydroquinone, **4**)、4-(3-羟丙基)苯酚 [4-(3-hydroxypropyl)phenol, **5**]、5-(3-羟丙基)-2-甲氧基苯酚 [5-(3-hydroxypropyl)-2-methoxyphenol, **6**]、4-甲基苯酚 (4-methylphenol, **7**)。其中, 化合物 **1** 为新的倍半萜类化合物, 命名为怀菊花没药烷 A; 化合物 **3**~**7** 为首次从该植物中分离得到。采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 模型, 以抑制炎症细胞因子一氧化氮 (NO) 的分泌为评价指标对分离得到的化合物进行体外抗炎活性评价。

1 仪器与材料

LC-52 型高压半制备液相色谱仪 [赛谱锐思 (北京) 科技有限公司], Bruker AVANCE III 500 核磁共振仪、Bruker maxis HD 型飞行时间质谱仪 (德国 Bruker 公司), Thermo Nicolet IS10 红外光谱仪 (Thermo Scientific, 美国), Thermo EVO300 紫外分光光度计 (Thermo Scientific, 美国), Anton Paar MCP 5100 型旋光仪 (奥地利 Anton Paar 公司), JASCO J-810 圆二色谱仪 (日本 Jasco 公司)。CKX41 型显微镜 (日本 Olympus 光学工业株式会社),

A10051560 型超净工作台 (AIRTECH 公司), Vortex-2 涡旋振荡器 (Scientific Industries 公司), Biofuge stratos 高速低温离心机 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), XH-C 型涡旋混合器 (金坛市医疗仪器厂), Proline 单道可调移液器 (德国 Sartorius 公司), EDP3-plus 电动多道移液器 (美国 RAININ 公司), Spectra Max Plus 384 酶标仪 (Molecular Devices 公司)。

柱色谱硅胶 H (200~300 目, 青岛海洋化工厂), MCI Gel CHP-20 柱色谱填料 (日本三菱化学公司), Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (Pharmacia Biotech), ODS 填料 (SP-120-50-ODS-B, Daisogel), 聚酰胺柱色谱 (60~80 目, 麦克林生化科技有限公司)。DMEM/RPMI 1640 培养基 (Invitrogen 公司), 胎牛血清 (杭州四季青生物材料研究所), DMSO (Biosharp 公司), 96 孔细胞培养板 (美国 Costar 公司), 24 孔细胞培养板 (美国 Costar 公司), 0.25% 胰酶细胞消化液 (Gibco), LPS (美国 Sigma-Aldrich Corporation 公司), *N*^G-单甲基-*L*-精氨酸醋酸盐 (S0011, 碧云天生物技术有限公司), NO 测试盒 (南京碧云天生物技术有限公司), 亚硝酸钠 (南京化学试剂股份有限公司)。

怀菊花 2023 年 3 月采自河南温县, 经河南中医药大学董诚明教授鉴定为菊科植物菊 *C. morifolium* Ramat. 的干燥头状花序。凭证样本 (20230313A) 存放于河南中医药大学中药化学研究室。

2 提取与分离

怀菊花干燥头状花序 5 kg 使用二氯甲烷冷浸提取, 料液比 1:1, 提取 3 次, 每次 48 h, 提取液减压浓缩得到总浸膏 275 g, 通过硅胶柱分离, 依次使用石油醚、二氯甲烷、二氯甲烷-甲醇 (1:1) 溶剂洗脱, 得到 3 个部位, 石油醚部位 (96 g)、二氯甲烷部位 (95 g)、二氯甲烷-甲醇 (1:1) 部位 (81 g)。

二氯甲烷部位 (95 g) 通过 MCI 色谱柱分离, 依次用 10% 甲醇、30% 甲醇、50% 甲醇、60% 甲醇、70% 甲醇、80% 甲醇、90% 甲醇、100% 甲醇洗脱, 得到 Fr. 1~8。Fr. 3 经 Sephadex LH-20 柱, 甲醇洗脱、ODS 柱, 水-甲醇 (1:0~0:1) 梯度洗脱、半制备 HPLC, 流动相 (甲醇-水 5:95~1:0) 梯度洗脱, 得到 Fr. 3.7.2.1~3.7.2.8。Fr. 3.7.2.5 经半制备 HPLC, 流动相 (甲醇-水 55:45) 等度洗脱, 得到化合物 **1**

(6.32 mg, $t_R=30.18$ min)。

Fr. 2 经 Sephadex LH-20 柱, 甲醇洗脱, 得到 Fr. 2.1~2.2。Fr. 2.1 经 ODS 柱, 水-甲醇 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 得到 Fr. 2.1.1~2.1.6。Fr. 2.1.4 经半制备 HPLC, 流动相 (乙腈-水 20:80) 等度洗脱, 得到化合物 **2** (15.34 mg, $t_R=33.75$ min)。Fr. 2.1.5 经半制备 HPLC, 流动相 (乙腈-水 25:75) 等度洗脱, 得到化合物 **3** (4.12 mg, $t_R=29.68$ min)。Fr. 2.2 经半制备 HPLC, 流动相 (乙腈-水 20:80~45:55) 等度洗脱, 得到 Fr. 2.2.1~2.2.5。Fr. 2.2.1 经半制备 HPLC, 流动相 (甲醇-水 5:95~40:60) 梯度洗脱, 得到化合物 **4** (2.0 mg, $t_R=40.50$ min)。Fr. 2.2.2 经半制备 HPLC, 流动相 (甲醇-水 5:95~40:60) 梯度洗脱, 得到化合物 **5** (7.23 mg, $t_R=46.67$ min)。Fr. 2.2.3 经半制备 HPLC, 流动相 (甲醇-水 5:95~40:60) 梯度洗脱, 得到化合物 **6** (3.01 mg, $t_R=22.59$ min)。Fr. 2.2.4 经半制备 HPLC, 流动相 (甲醇-水 32:68) 等度洗脱, 得到化合物 **7** (2.63 mg, $t_R=26.95$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, $[\alpha]_D^{25}+12(c 0.03, CH_3OH)$ 。HR-ESI-MS 给出 m/z 为 275.161 6 $[M+Na]^+$ (计算值为 275.161 8), 说明其分子式为 $C_{15}H_{24}O_3$, 不饱和度为 4。UV (甲醇) 显示该化合物的最大吸收波长在 236 nm 处。IR (KBr) 光谱数据显示该化合物具有羟基 (3438 cm^{-1}), 羰基 (1671 cm^{-1})。在 1H -NMR 谱图 (500 MHz, $CDCl_3$) 中, 显示 4 个特征甲基信号 (δ_H 1.78, s; 1.20, s; 1.17, s; 1.12, s), 1 个烯氢质子信号 (δ_H 6.73, m), 1 个连氧氢质子信号 (δ_H 3.78, m)。 ^{13}C -NMR、HSQC 数据显示有 15 个碳信号, 包括 12 个 sp^3 杂化碳原子 [含有 4 个甲基、4 个亚甲基、2 个次甲基 (包括 1 个连氧碳 δ_C 84.4) 和 2 个季碳 (分别为连氧碳 δ_C 83.8, 71.6)] 以及 3 个 sp^2 杂化碳原子 (包括 1 个酮羰基 δ_C 200.4 以及 2 个烯碳 δ_C 144.8, 135.6)。以上数据表明化合物 **1** 应该是 1 个倍半萜类化合物。

在 HMBC 图谱中, 显示 H_2-1 与 C-2/C-3/C-7 相关 (图 1); 烯氢质子 $H-2$ 与 C-1/C-3/C-4/C-6 相关; H_3-15 与 C-2/C-4 相关; $H-5$ 与 C-4/C-7 相关; H_3-14 与 C-6/C-7/C-8 相关; H_2-9 与 C-7/C-10/C-11 相关; $H-10$ 与 C-8/C-12/C-13 相关; H_3-12 与 H_3-13 皆与 C-10/C-11 相关, 说明化合物 **1** 具有没药烷倍半萜骨架结构。其中烯氢 $H-2$ (δ_H 6.73, m) 与 C-2 (δ_C 144.8),

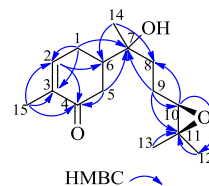


图 1 化合物 **1** 的结构和关键的 HMBC 相关

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations of compound **1**

C-3 (δ_C 135.6), C-4 (δ_C 200.4) 以及 $H-5$ 与 C-4 存在 HMBC 相关, 说明 C-2, C-3, C-5 位存在 α,β 不饱和酮。 H_3-14 , H_2-1 , H_2-5 以及 H_2-8 皆与连氧季碳 C-7 (δ_C 83.8) 相关, 说明 C-7 连接有羟基; H_3-12 , H_3-13 皆与连氧碳 C-10 (δ_C 84.4), C-11 (δ_C 71.6) 相关, 且除去 α,β 不饱和酮及没药烷倍半萜骨架中的六元环, 还剩余 1 个不饱和度, 说明 C-10 与 C-11 为形成三元氧环。

在 ROESY 谱图中, 可以看到明显的 $H-6$ 与 H_3-14 相关, 但由于 C-7 为链上的 sp^3 杂化碳, 可自由旋转, 不能通过 ROESY 相关确定其相对构型。另外由于 C-10 侧链在侧链上且距离发射团 α,β 不饱和酮较远, 因此对 CD 图谱数据贡献较小。综上, 首先采用计算 ECD 方法确定 C-6、C-7 位的构型。采用 IEFPCM 模型在甲醇中针对 (6*S*,7*R*)-**1**、(6*S*,7*R*)-**1**、(6*R*,7*R*)-**1** 和 (6*S*,7*S*)-**1** 在 CAM-B3LYP/DGDZVP 水平计算得到的 ECD 谱见图 2, 可知 (6*S*,7*R*)-**1** 的 ECD 谱与实验 ECD 谱相吻合。其次, 采用计算碳谱的方法进一步确定 C-10 位构型, 通过 DP4+ 分析确定其构型 10*R*。因此, 最终确定该化合物为 (6*S*,7*R*,10*R*)-没药烷-7-羟基-10,11-环氧-4-酮, 命名为怀菊花没药烷 A, 其 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 谱信号归属见表 1。

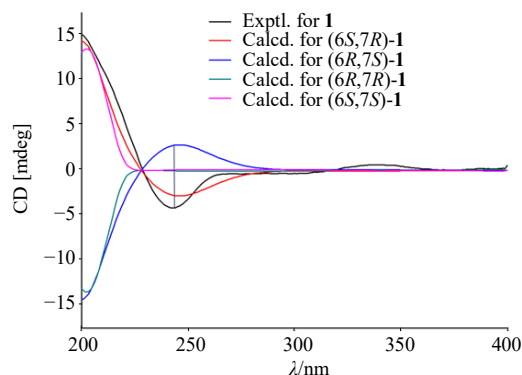


图 2 化合物 **1** 的计算 ECD 曲线和实测 ECD 曲线

Fig. 2 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

表 1 化合物 1 的核磁数据 (500/125 MHz, CDCl₃)
Table 1 NMR data of compound 1 (500/125 MHz, CDCl₃)

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
1a	2.39 (1H, m)	28.1	8b	1.64 (1H, m)	
1b	2.21 (1H, m)		9a	1.88 (1H, m)	26.4
2	6.73 (1H, dt, $J = 6.5, 1.7$ Hz)	144.7	9b	1.75 (1H, m)	
3		135.6	10	3.78 (1H, t, $J = 7.3$ Hz)	84.4
4		200.4	11		71.6
5a	2.63 (1H, m)	40.1	12	1.20 (3H, s)	27.2
5b	2.26 (1H, m)		13	1.12 (3H, s)	24.6
6	2.18 (1H, m)	45.1	14	1.17 (3H, s)	22.7
7		83.8	15	1.77 (3H, s)	15.8
8a	1.81 (1H, m)	35.2			

化合物 2: 无色针晶 (甲醇)。ESI-MS m/z : 197.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.69 (1H, s, H-10), 4.32 (1H, m, H-5), 2.46 (1H, m, H-6a), 1.98 (1H, dt, $J = 14.5, 2.7$ Hz, H-4a), 1.78 (3H, s, H-7), 1.77 (1H, m, H-6b), 1.52 (1H, dd, $J = 14.5, 2.7$ Hz, H-4b), 1.46 (3H, s, H-1), 1.27 (3H, s, H-2); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 26.4 (C-1), 26.9 (C-2), 36.0 (C-3a), 45.5 (C-4a), 66.4 (C-5a), 47.1 (C-6a), 30.6 (C-7), 187.1 (C-8), 172.1 (C-9), 112.4 (C-10), 183.0 (C-11)。以上数据与文献报道比对基本一致^[5], 故鉴定化合物 2 为黑麦草内酯。

化合物 3: 黄色粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 169.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.76 (1H, dd, $J = 6.4, 2.2$ Hz, H-2), 2.61 (1H, m, H-5a), 2.45 (1H, m, H-5b), 2.24 (1H, m, H-3a), 2.06 (1H, m, H-3b), 1.78 (3H, s, H-7), 1.21 (3H, s, H-10), 1.20 (3H, s, H-9); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 135.0 (C-1), 144.6 (C-2), 26.8 (C-3a), 49.4 (C-4a), 39.6 (C-5a), 200.2 (C-6a), 15.6 (C-7), 71.5 (C-8), 27.3 (C-9), 27.1 (C-10), 183.0 (C-11)。以上数据与文献报道比对基本一致^[6], 故鉴定化合物 3 为 (4*R*)-1-甲基-4-(1-羟基异丙基)环己烯-6-酮。

化合物 4: 黄色粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 141.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.76 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-6), 6.45 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.33 (1H, dd, $J = 8.6, 2.8$ Hz, H-2), 3.86 (3H, s, H-7); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 149.4 (C-1), 99.7 (C-2), 147.2 (C-3), 139.7 (C-4), 114.4 (C-5), 106.8 (C-6), 56.1 (C-7)。以上数据与文献报道比对基本一致^[7],

故鉴定化合物 4 为 2-甲氧基对苯二酚。

化合物 5: 白色粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 153.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.04 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3), 7.06 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.74 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2), 6.76 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 3.67 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-9), 2.64 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-7), 1.86 (2H, dq, $J = 7.7, 6.4$ Hz, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 155.7 (C-1), 111.4 (C-2), 130.1 (C-3), 136.8 (C-4), 130.1 (C-5), 111.4 (C-6), 31.5 (C-7), 33.9 (C-8), 62.1 (C-9)。以上数据与文献报道比对基本一致^[8], 故鉴定化合物 5 为 4-(3-羟丙基)苯酚。

化合物 6: 白色粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 183.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.83 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-3), 6.69 (1H, dd, $J = 7.9, 2.0$ Hz, H-4), 6.71 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.88 (3H, s, H-10), 3.68 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-9), 2.64 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-7), 1.87 (2H, m, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 144.7 (C-1), 145.7 (C-2), 110.9 (C-3), 119.9 (C-4), 135.3 (C-5), 114.9 (C-6), 31.6 (C-7), 34.4 (C-8), 62.4 (C-9), 56.2 (C-10)。以上数据与文献报道比对基本一致^[9], 故鉴定化合物 6 为 5-(3-羟丙基)-2-甲氧基苯酚。

化合物 7: 白色粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS m/z : 109.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.90 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-3, 5), 6.89 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-2, 6), 2.56 (3H, s, H-7); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 152.9 (C-1), 115.4 (C-2), 130.2 (C-3), 130.3 (C-4), 130.2 (C-5), 115.4 (C-6), 20.5 (C-7)。以上数据与文献报道比对基本一致^[10], 故鉴定化合物 7 为 4-甲基苯酚。

4 抗炎活性

本实验对分离得到的化合物通过对 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 产生 NO 抑制作用来评价其抗炎活性^[1]。取生长状态良好且处于对数生长期的 RAW264.7 细胞,用 DMEM 完全培养基配制成单细胞悬液,细胞计数,以 1×10^5 个/mL,每孔 100 μ L 均匀接种于 96 孔板中,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h。设置空白组(仅 DMEM 培养基)、模型组(1 μ g/mL LPS)、实验组 [1 μ g/mL LPS + (1、10、20、40、80、100 μ mol/L 化合物)],每组 3 个复孔。培养 24 h,取其上清液于离心管中,采用 Griess 试剂盒操作方法,检测细胞培养液中 NO 的含量。采用 NO 合酶抑制剂 N^G-单甲基-L-精氨酸醋酸盐作为阳性药对照。同时,通过 CCK-8 试验评估 RAW264.7 细胞的活力,以排除化合物的细胞毒性干扰。用酶标仪在 540 nm 测定各孔吸光度(A)值,计算抑制率和 IC₅₀ 值。

$$\text{NO 抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{空白}})$$

对化合物 1~7 在 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞株上进行了 NO 抑制活性筛选,结果表明,与模型组相比,化合物 1 在 50 μ mol/L 浓度时的 NO 抑制率为 80.2%,其 IC₅₀ 值为 9.2 μ mol/L,化合物 3 在 50 μ mol/L 时的 NO 抑制率为 60.2%,其 IC₅₀ 值为 38.9 μ mol/L,1 和 3 能显著抑制 LPS 诱导 RAW264.7 释放 NO 量,具有显著的抗炎活性,其他化合物活性并不显著,阳性药 N^G-单甲基-L-精氨酸醋酸盐 IC₅₀ 值为 22.1 μ mol/L。

5 讨论

本研究从怀菊花中分离并鉴定了 7 个化合物,其中化合物 1 为新的没药烷型倍半萜类化合物,化合物 3~7 为首次从该属植物中分离得到。倍半萜类化合物广泛分布于菊科、伞形科、姜科、败酱科

等植物中,具有抗癌、抗菌等作用。本研究发现化合物 1 具有显著的抗炎活性,这对倍半萜类化合物以及怀菊花的进一步研究提供良好的理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 193-194.
- [2] 李孟, 张靖柯, 石静亚, 等. 怀菊花及其茎叶脂溶性成分 GC-MS 分析及其抗氧化活性研究 [J]. 中国医药科学, 2020, 10(19): 78-82.
- [3] 谢媛媛, 袁丹, 田慧芳, 等. 怀菊花化学成分的研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2009, 19(4): 276-279.
- [4] 杨颖, 石静亚, 李孟, 等. 怀菊花茎叶中酚类化学成分研究 [J]. 中药材, 2022, 45(4): 866-869.
- [5] Willuhn G, Westhaus R G. Loliolide (calendin) from *Calendula officinalis* [J]. *Planta Med*, 1987, 53(3): 304.
- [6] Zhao Y R, Wu Y S, De Clercq P, et al. Asymmetrization of all-cis-3, 5-dihydroxy-1-(methoxycarbonyl)cyclohexane and of the 4-methyl and 4-ethyl substituted homologues [J]. *Tetrahedron Asymmetry*, 2000, 11(19): 3887-3900.
- [7] Chen S, Hossain M S, Foss F W Jr. Organocatalytic dakin oxidation by nucleophilic flavin catalysts [J]. *Org Lett*, 2012, 14(11): 2806-2809.
- [8] Han C, Huang Z J, Zheng C, et al. Nitric oxide donating anilinopyrimidines: Synthesis and biological evaluation as EGFR inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2013, 66: 82-90.
- [9] Cao Y X, Silalai P, Liu C F, et al. Hypervalent-iodine(III)-mediated tandem oxidative dearomatization/aziridination of phenolic amines: Synthesis of functionalized unactivated aziridines [J]. *Chemistry*, 2021, 27(33): 8473-8478.
- [10] Kokotos C, Sideri I, Voutyritsa E. Green photoorganocatalytic synthesis of phenols from arylboronic acids [J]. *Synlett*, 2018, 29(10): 1324-1328.
- [11] Yang B Y, Guo R, Li T, et al. New anti-inflammatory with anolides from the leaves of *Datura metel* L. [J]. *Steroids*, 2014, 87: 26-34.

[责任编辑 王文倩]