

啤酒花中 1 个新的查耳酮类化合物

王利杰^{1,2,3}, 石妍婧¹, 赫军⁴, 丁康⁴, 张维库^{3*}, 续洁琨^{1,2*}

1. 北京中医药大学生命科学院, 北京 100029
2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029
3. 中日友好医院 临床医学研究所, 北京 100029
4. 中日友好医院 药学部, 北京 100029

摘要: 目的 研究啤酒花 *Humulus lupulus* 的化学成分, 并评价其体外抗炎活性。方法 采用多种色谱技术进行分离纯化, 通过高分辨质谱、核磁共振等方法对化合物进行结构鉴定, 并采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 RAW264.7 细胞炎症模型评价其体外对 NO 释放的抑制作用。结果 从啤酒花带花果穗的 95%乙醇提取部位中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 2',4'-二羟基-4',6'-二甲氧基-3'-(2-羟基-3-甲基-3-丁烯基)查耳酮 (1)、tsugafolin (2)、dihydroxanthohumol (3)、4'-*O*-methylxanthohumol (4)、(2*S*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone (5) 和 (2*R*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone (6)。体外抗炎实验表明, 化合物 1 和 4 的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (5.83±1.76) 和 (10.45±2.36) μmol/L。结论 化合物 1 为 1 个新的查耳酮类化合物, 命名为 (±)-蛇麻花素 A, 化合物 2 为首次从葎草属中分离得到。化合物 1 和 4 均具有显著的抗炎活性。

关键词: 啤酒花; 查耳酮; (±)-蛇麻花素 A; 抗炎活性; tsugafolin; 4'-*O*-methylxanthohumol

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)12-3943-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.12.002

A new chalcone from *Humulus lupulus*

WANG Lijie^{1,2,3}, SHI Yanjing¹, HE Jun⁴, DING Kang⁴, ZHANG Weiku³, XU Jiekun^{1,2}

1. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
3. Institute of Clinical Medical Sciences, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China
4. Department of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of Pijuhua (*Humulus lupulus* L.), and to evaluate the isolates against anti-inflammatory activity *in vitro*. **Methods** The flowers with fruiting spikes of *H. Lupulus* were refluxed and extracted by 95% ethanol, then the extract was isolated and purified by use of various chromatographic techniques, and the structure of the compounds were elucidated by HR-ESI-MS and NMR methods. The lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory model in RAW264.7 cells was used to evaluate inhibitory effect of all compounds on NO release. **Results** Six compounds were isolated from the extract of *H. lupulus* and identified as 2',4'-dihydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl) chalcone (1), tsugafolin (2), dihydroxanthohumol (3), 4'-*O*-methylxanthohumol (4), (2*S*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone (5) and (2*R*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone (6). The results of anti-inflammatory cell assay showed that the median inhibition concentration (IC₅₀) of 1 and 4 were (5.83±1.76) and (10.45±2.36) μmol/L, respectively. **Conclusion** Compound 1 was a new chalcone, named (±)-lupulusone A, and compound 2 was

收稿日期: 2024-03-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82273809); 国家自然科学基金项目 (82273815); 国家自然科学基金项目 (82073731); 中央高水平医院临床科研业务费&中日友好医院菁英计划 (2023-NHLHCRF-CXYW-01, ZRKY2021-BJ06, ZRKY2021-TD06)

作者简介: 王利杰, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药活性成分的研究。E-mail: 1980086626@qq.com

*通信作者: 张维库, 男, 研究员, 博士生导师, 从事源于中药的创新药物研究。E-mail: cpuzwk@163.com

续洁琨, 女, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质研究。E-mail: xjkbcum@163.com

isolated from the *Humulus* genus for the first time. Compounds **1** and **4** showed significant anti-inflammatory activity.

Key words: *Humulus lupulus* L.; chalcone; (±)-lupulusone A; anti-inflammatory activity; tsugafolin; 4'-*O*-methylxanthohumol

啤酒花 *Humulus lupulus* L. 别名忽布、酒花、蛇麻花、香蛇麻、唐草花、陀得花等，为大麻科葎草属多年生攀援草本植物。啤酒花原产于欧洲，在我国新疆北部有野生分布，东北、华北、西北和山东等地多有栽培^[1]，亚洲北部和东北部、美洲东部亦有分布^[2]。啤酒花是一种使用历史悠久的药食两用植物，历代本草均有记载，明代李时珍《本草纲目》所引宋代《开宝本草》所记载陀得花即为啤酒花，其志曰：“主一切风血，浸酒服。生西域，胡人将来，胡人采此花以酿酒，呼为三勒浆”。啤酒花用于啤酒酿造具有增加风味、防腐抑菌的作用^[3]。除了用于啤酒酿造，啤酒花常以未成熟带花果穗用药，其味苦，性平，具有健胃消食、安神利尿、止咳化痰的功效，常用于治疗消化不良、腹胀、食欲不振、肺结核、膀胱炎、胸膜炎、神经衰弱、失眠等症^[4]。啤酒花的化学成分主要包括间苯三酚衍生物类、挥发油类、黄酮类等^[5-6]。现代药理学研究表明啤酒花在抗炎、神经保护、抗菌、抗肿瘤、降糖等方面有较好的活性^[7-11]。

为进一步阐明啤酒花的药效物质，本研究运用

多种色谱分离技术对啤酒花乙醇提取物的二氯甲烷萃取部位进行分离纯化，从中分离得到6个化合物(图1)。运用高分辨质谱、核磁共振等波谱学技术，化合物分别鉴定为 2',4'-二羟基-4',6'-二甲氧基-3'-(2-羟基-3-甲基-3-丁烯基)查耳酮 [2',4'-dihydroxy-4',6'-dimethoxy-3'-(2-hydroxy-3-methyl-3-butenyl) chalcone, **1**]、tsugafolin(**2**)、dihydroxanthohumol(**3**)、4'-*O*-methylxanthohumol(**4**)、(2*S*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone(**5**)和(2*R*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone(**6**)。其中化合物**1**为1个新的查耳酮类化合物，命名为(±)-蛇麻花素A；化合物**2**为首次从葎草属中分离得到，化合物**5**和**6**为1对C-2差向异构体。体外抗炎活性实验表明，化合物**1**和**4**可以有效抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的小鼠RAW264.7细胞释放NO炎症因子，其半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC₅₀)分别为(5.83±1.76)和(10.45±2.36) μmol/L。

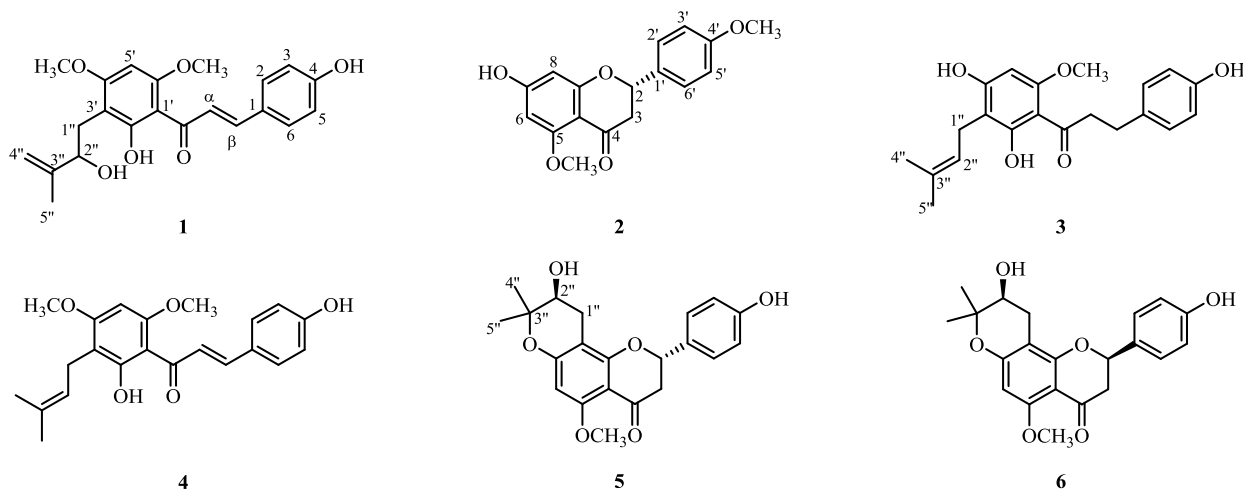


图1 化合物1~6的化学结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—6

1 仪器与材料

Bruker AV-400/600型核磁共振仪(瑞士Bruker Biospin公司);傅里叶变换红外/拉曼光谱仪(德国Bruker公司);分析高效液相色谱仪(Agilent 1260型,DAD检测器,美国Agilent公司);制备高效液相色谱仪(泵LC-20A,检测器SPD-20A,日本岛津公司);EYELA旋转蒸发仪(日本东京理化公司);

CP225D型十万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司);SpectraMax i3X型酶标仪(美国Molecular Devices公司);移液器(德国Eppendorf公司);二氧化碳细胞培养箱(美国Thermo Fisher Scientific公司);BIOFUGE STRATOS型离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司);IX73型倒置电子显微镜(日本Olympus公司)。

柱色谱硅胶(100~200、200~300目,青岛海洋化工厂);硅胶 GF₂₅₄薄层预制板(烟台化学工业研究所);十八烷基硅烷(ODS, 30~50 μm, 日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 型凝胶(瑞典 Pharmacia 公司);半制备型 HPLC 色谱柱为 Caprisil C18-P 色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm);分析型 HPLC 色谱柱为 Caprisil C₁₈-P 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); Chiralpak AD-H 手性色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 96 孔板(美国 Coster 公司)。一氧化氮检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); RAW264.7 细胞(中国医学科学院基础研究所); LPS(美国 Sigma 公司); DMEM 培养基、PBS 缓冲液及胎牛血清(FBS)均购自美国 Gibco 公司; DMSO(美国 Sigma 公司), 地塞米松(上海源叶生物有限公司)。实验所用试剂均为分析纯(北京化工厂)和色谱纯(美国 Honeywell 公司)。

本研究所用啤酒花药材于 2021 年 3 月购自新疆维吾尔自治区昌吉市, 由中日友好医院药学部马秉智副主任药师鉴定为大麻科葎草属啤酒花 *H. lupulus* L. 的带花果穗, 样本(20210324)存放于中日友好医院临床医学研究所。

2 提取与分离

取干燥的啤酒花药材(101.4 kg)乙醇浸渍提取 3 次(300 L×3, 每次 24 h)。收集合并浸提液(800 L), 75 °C 下乙醇加热回流提取 2 次(700 L×2, 每次 1 h)。合并提取液, 减压浓缩得总浸膏 30 L。加入 30 L 蒸馏水将总浸膏制成混悬液, 依次用 2 倍量的石油醚、二氯甲烷和醋酸乙酯各萃取 3 次, 萃取液减压浓缩得到石油醚部位(49.8 g)、二氯甲烷部位(13.7 kg)和醋酸乙酯部位(202.8 g)。

取二氯甲烷萃取部位(13.7 kg)经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯系统(100:0→0:100)梯度洗脱, 得 5 个流分(Fr. 1~5)。流分 Fr. 3(3.6 kg)经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯系统(100:0→0:100)梯度洗脱, 得 25 个流分(Fr. 3.1~3.25)。

流分 Fr. 3.13(96 g)经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯系统(100:0→0:100)梯度洗脱, 得 17 个流分(Fr. 3.13.1~3.13.17)。流分 Fr. 3.13.7(6 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 以石油醚-二氯甲烷-甲醇(5:5:1)等度洗脱, 得到 13 个流分(Fr. 3.13.7.1~3.13.7.13)。流分 Fr. 3.13.7.4(2 g)经 ODS 柱色谱(甲醇-水 3:7→10:0)并经 TLC 点板分析合并得到 6 个流分(Fr. 3.13.7.4.1~

3.13.7.4.6)。流分 Fr. 3.13.7.4.4 经反相制备液相(乙腈-水 50:50)分离纯化, 得到化合物 1(3.5 mg, $t_R=65$ min); 流分 Fr. 3.13.7.4.5 经反相制备液相(甲醇-水 65:35)分离纯化, 得到化合物 2(10 mg, $t_R=73$ min)。流分 Fr. 3.13.17(4 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 以石油醚-二氯甲烷-甲醇(5:5:1)等度洗脱, 得到 16 个流分(Fr. 3.13.17.1~3.13.17.16)。流分 Fr. 3.13.17.12 经反相制备液相(甲醇-水 70:30)得化合物 3(13 mg, $t_R=73$ min), 流分 Fr. 3.13.17.14 经反相制备液相(甲醇-水 75:25)得化合物 4(7 mg, $t_R=63$ min)。

流分 Fr. 3.8(43 g)经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯系统(100:0→0:100)梯度洗脱, 得到 16 个流分(Fr. 3.8.1~3.8.16)。流分 Fr. 3.8.4(4 g)经 Sephadex LH-20 型凝胶柱色谱, 以石油醚-二氯甲烷-甲醇(5:5:1)等度洗脱, 得到 6 个流分 Fr. 3.8.4.1~3.8.4.6。流分 Fr. 3.8.4.4 经反相制备液相(甲醇-水 45:55)得化合物 5(2.5 mg, $t_R=101$ min)和 6(3.5 mg, $t_R=116$ min)。

3 结构鉴定

化合物 1: 黄色粉末。[α]_D²⁰ +0.3(c 0.05, MeOH)。HR-ESI-MS m/z 383.149 9 [M-H]⁻(计算值为 383.148 9), 确定化合物的分子式为 C₂₂H₂₄O₆, 计算其不饱和度为 11。红外光谱显示该化合物结构中含有羟基(3 264 cm⁻¹)、苯环(1 604 cm⁻¹ 和 1 550 cm⁻¹)等基团。紫外光谱显示在 202 nm 和 368 nm 处有查耳酮类化合物的特征吸收。

¹H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) 谱(表 1)在 δ_H 7.58(2H, d, $J=8.8$ Hz), 6.84(2H, d, $J=8.8$ Hz) 给出 1 组芳香氢信号, 提示存在 1, 4-二取代的苯环, δ_H 6.24(1H, s) 给出 1 个芳香氢信号, 提示存在五取代苯环片段。 δ_H 7.67(2H, m) 给出 1 组双键烯氢质子信号, δ_H 4.55(2H, d, $J=7.5$ Hz) 给出 2 个末端烯氢信号; δ_H 4.15(1H, m) 给出 1 个与氧相连的次甲基质子信号, δ_H 3.88(3H, s), 3.97(3H, s) 给出 2 个甲氧基质子信号, δ_H 2.68(2H, m) 给出 1 组亚甲基质子信号, δ_H 1.71(3H, s) 给出 1 个甲基质子信号。¹³C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*₆) 谱(表 1)中给出 22 个碳原子信号, 结合 HSQC 谱判断该化合物有 8 个季碳, 8 个次甲基, 2 个亚甲基, 3 个甲基。其中 δ_C 130.6(CH×2), 116.0(CH×2), 87.5(CH) 为 5 个苯环上的次甲基碳信号, δ_C 123.8(CH), 143.0(CH) 为 2 个双键上的次甲基碳信号, δ_C 73.6(CH) 为 1 个与

表 1 化合物 1 的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ (400/100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) 数据Table 1 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data for compound 1 (400/100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
C=O		192.4 (C)	4'		163.8 (C)
α	7.67 (m)	123.8 (CH)	5'	6.24 (s)	87.5 (CH)
β	7.67 (m)	143.0 (CH)	6'		161.1 (C)
1		125.9 (C)	4'-OCH ₃	3.88 (s)	55.8 (CH ₃)
2,6	7.58 (d, $J = 8.8$ Hz)	130.6 (CH)	6'-OCH ₃	3.97 (s)	56.1 (CH ₃)
3,5	6.84 (d, $J = 8.8$ Hz)	116.0 (CH)	1''	2.68 (m)	28.8 (CH ₂)
4		160.0 (C)	2''	4.15 (m)	73.6 (CH)
1'		105.6 (C)	3''		148.2 (C)
2'		163.3 (C)	4''	4.55 (d, $J = 7.5$ Hz)	109.7 (CH ₂)
3'		106.4 (C)	5''	1.71 (s)	17.0 (CH ₃)

氧相连的次甲基碳信号, δ_{C} 109.8 (CH₂) 为 1 个末端双键上的亚甲基碳信号, δ_{C} 55.8 (CH₃), 56.1 (CH₃) 为 2 个甲氧基碳信号, 此外 δ_{C} 192.4 (C) 为 1 个酮羰基碳信号。

该化合物的波谱数据与已知查耳酮类化合物 xanthohumol D 的波谱数据非常相似^[12], 结合质谱信息发现化合物 1 与 xanthohumol D 不同之处在于 A 环上的 1 个羟基被甲氧基取代。为进一步确定该甲氧基的取代位置, 测试了化合物 1 的 HMBC 谱 (图 2), δ_{H} 3.97 (3H, OCH₃) 与 δ_{C} 161.1 (C-6') 相关, 可确定该 OCH₃ 连在 C-6' 上, δ_{H} 3.88 (3H, OCH₃) 与 δ_{C} 163.8 (C-4') 相关, 可确定该 OCH₃ 连在 C-4' 上, 同时 δ_{H} 3.97 (3H, s, OCH₃) 与 δ_{H} 3.88 (3H, s, OCH₃) 又分别与 δ_{C} 87.5 (C-5') 相关, 提示该化合物的 2 个甲氧基处在间位。结合 δ_{H} 2.68 (2H, m, H₂-1'') 与 δ_{C} 163.3 (C-2''), δ_{C} 106.4 (C-3') 和 δ_{C} 163.8 (C-4') 的相关, 确定 2-羟基-3-甲基-3-丁烯基连接在 C-3' 上, 并进一步确定了化合物 1 的 C-4' 位上的羟基被甲氧基取代。结合以上信息, 化合物 1 鉴定为 2',4'-二羟基-4',6'-二甲氧基-3'-(2-羟基-3-甲基-3-丁烯基) 查耳酮。

进一步, 化合物 1 结构中含 1 个手性中心, 比旋光度近似为 0, 推测该化合物可能为 1 对对映异

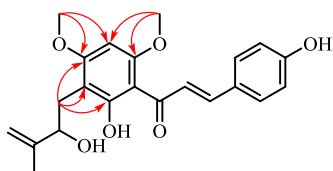


图 2 化合物 1 的主要 HMBC 相关

Fig. 2 Key HMBC correlations of compound 1

构体。进一步利用手性 HPLC 对化合物 1 进行分析 [Chiralpak AD-H 手性色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm , 正己烷-乙醇 85 : 15), 体积流量 1 mL/min, 柱温 25 °C], 发现在保留时间 $t_{\text{R}1}$ = 12.20 min 和 $t_{\text{R}2}$ = 19.85 min 处有 2 个峰面积接近 1 : 1 的色谱峰 (图 3)。

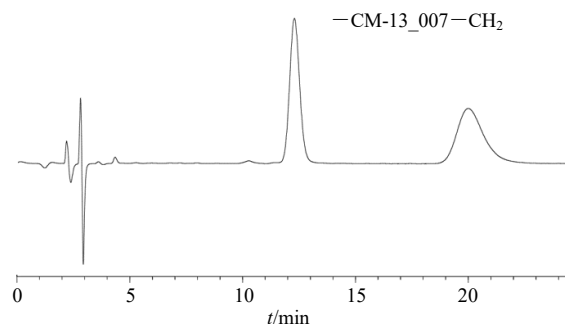


图 3 化合物 1 的 HPLC-UV 图 (365 nm)

Fig. 3 HPLC-UV chromatogram of compound 1 (365 nm)

综上所述, 化合物 1 经 SciFinder 文献数据库检索为 1 个新的查耳酮类化合物, 命名为 (±)-蛇麻花素 A [(±)-lupulusone A]。

化合物 2: 淡黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 299.092 8 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₇H₁₆O₅。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 9.55 (1H, s, 7'-OH), 7.30 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.19 (2H, overlapped, H-6, 8), 5.39 (1H, dd, $J = 12.9, 2.9$ Hz, H-2), 3.79 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.77 (3H, s, 5-OCH₃), 3.05 (1H, dd, $J = 16.6, 13.1$ Hz, H-3b), 2.55 (1H, dd, $J = 16.4, 3.0$ Hz, H-3a); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 78.3 (C-2), 44.7 (C-3), 188.1 (C-4), 161.7 (C-5), 92.8 (C-6), 165.3 (C-7), 93.7 (C-8), 164.4 (C-9),

105.1 (C-10), 129.1 (C-1'), 128.2 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 157.6 (C-4'), 55.7 (5-OCH₃), 55.8 (4'-OCH₃)。以上数据与文献对比^[13], 鉴定化合物**2**为 tsugafolin。

化合物**3**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 355.154 7 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₁H₂₄O₅。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 14.20 (1H, s, 2'-OH), 7.01 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2, 6), 6.66 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3, 5), 6.05 (1H, s, H-5'), 5.11 (1H, t, J = 6.9 Hz, H-2''), 3.78 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.16 (2H, m, H- α), 3.11 (2H, d, J = 7.2 Hz, H-1''), 2.76 (2H, t, J = 7.7 Hz, H- β), 1.68 (3H, s, H-5''), 1.59 (3H, s, H-4''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 204.1 (C=O), 45.6 (C- α), 29.6 (C- β), 131.5 (C-1), 129.1 (C-2, 6), 115.1 (C-3, 5), 155.4 (C-4), 104.0 (C-1'), 163.9 (C-2'), 107.1 (C-3'), 162.4 (C-4'), 90.6 (C-5'), 160.8 (C-6'), 21.0 (C-1''), 123.0 (C-2''), 129.9 (C-3''), 25.5 (C-4''), 17.7 (C-5''), 55.6 (6'-OCH₃)。以上数据与文献对比^[14], 鉴定化合物**3**为 dihydroxanthohumol。

化合物**4**: 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z : 367.154 5 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₂H₂₄O₅。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 14.21 (1H, s, 2'-OH), 10.12 (1H, s, 4-OH), 7.73 (2H, m, H- α , β), 7.59 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2, 6), 6.84 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3, 5), 6.27 (1H, s, H-5'), 5.09 (1H, m, H-2''), 3.98 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.91 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.16 (2H, d, J = 6.8 Hz, H-1''), 1.69 (3H, s, H-4''), 1.60 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 192.4 (C=O), 123.6 (C- α), 143.0 (C- β), 125.9 (C-1), 130.7 (C-2, 6), 116.0 (C-3, 5), 160.2 (C-4), 105.5 (C-1'), 162.8 (C-2'), 108.4 (C-3'), 163.1 (C-4'), 87.7 (C-5'), 161.2 (C-6'), 21.0 (C-1''), 122.7 (C-2''), 130.3 (C-3''), 17.6 (C-4''), 25.5 (C-5''), 55.9 (4'-OCH₃), 56.2 (6'-OCH₃)。以上数据与文献对比^[12], 鉴定化合物**4**为 4'-*O*-methylxanthohumol。

化合物**5**: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 369.133 9 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₁H₂₂O₆。¹H-NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ : 7.33 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.09 (1H, s, H-6), 5.37 (1H, dd, J = 13.0, 2.9 Hz, H-2), 3.80 (3H, s, 5-OCH₃), 3.76 (1H, brt, J = 6.2 Hz, H-2''), 3.02 (1H, dd, J = 16.6, 13.0 Hz, H-3a), 2.82 (1H, dd, J = 17.0, 5.2 Hz, H-1''a), 2.69 (1H, dd, J = 16.6, 3.0 Hz, H-3b), 2.55 (1H, dd, J = 17.0, 6.2 Hz, H-1''b), 1.32 (3H, s, H-5''), 1.31 (3H, s, H-4''); ¹³C-NMR (100 MHz, Methanol-*d*₄) δ : 80.2 (C-2), 46.0 (C-3), 192.6 (C-4), 161.9 (C-5), 94.7 (C-6), 161.8 (C-

7), 101.8 (C-8), 163.9 (C-9), 106.2 (C-10), 131.2 (C-1'), 128.9 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 159.0 (C-4'), 26.5 (C-1''), 69.4 (C-2''), 79.7 (C-3''), 21.9 (C-4''), 25.5 (C-5''), 56.1 (5-OCH₃)。以上数据与文献对比^[15], 鉴定化合物**5**为 (2*S*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone。

化合物**6**: 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 371.148 5 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₁H₂₂O₆。¹H-NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ : 7.33 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.08 (1H, s, H-6), 5.37 (1H, dd, J = 12.9, 3.0 Hz, H-2), 3.80 (3H, s, 5-OCH₃), 3.74 (1H, dd, J = 7.1, 5.3 Hz, H-2''), 3.02 (1H, dd, J = 16.6, 12.9 Hz, H-3a), 2.84 (1H, dd, J = 16.9, 5.4 Hz, H-1''a), 2.69 (1H, dd, J = 16.9, 5.4 Hz, H-3b), 2.50 (1H, dd, J = 16.9, 7.1 Hz, H-1''b), 1.34 (3H, s, H-5''), 1.28 (3H, s, H-4''); ¹³C-NMR (100 MHz, Methanol-*d*₄) δ : 80.2 (C-2), 46.1 (C-3), 192.6 (C-4), 161.9 (C-5), 94.7 (C-6), 161.8 (C-7), 102.0 (C-8), 163.8 (C-9), 106.2 (C-10), 131.2 (C-1'), 128.8 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 159.0 (C-4'), 26.5 (C-1''), 69.8 (C-2''), 79.8 (C-3''), 21.2 (C-4''), 25.8 (C-5''), 56.1 (5-OCH₃)。以上数据与文献对比^[15], 鉴定化合物**6**为 (2*R*,2''*S*)-4'-hydroxy-5-methoxy-7,8-(2,2-dimethyl-3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-pyrano) flavanone。

4 抗炎活性研究

采用 Griess 试剂法考察所有化合物对 LPS 诱导的小鼠 RAW264.7 细胞释放 NO 炎症因子的影响^[16]。将 RAW264.7 细胞以约 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板, 置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 24 h, 去除原有培养基, 空白对照组加入 100 μ L 完全培养基, 模型组和给药组加入 90 μ L 完全培养基, 给药组加入 90 μ L 样品, 给药浓度 100、50、25、12.5、6.25、3.125 μ mol/L, 预处理 1 h 后, 模型组和给药组均加入 10 μ L LPS (1 μ g/mL) 诱导, 继续培养 24 h 后, 各组吸取上清液 50 μ L, 加入 50 μ L Griess 试剂, 继续培养 30 min 后, 用酶标仪于 540 nm 波长下测定吸光度值, 每组设置 3 个复孔, 重复 3 次。按照公式计算不同浓度梯度下的抑制率, 以 Graphpad Prism 9 软件计算 IC₅₀。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{给药}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{空白}})$$

结果显示, 化合物**1**和**4**表现出 NO 释放抑制活性, 其 IC₅₀ 值分别为 (5.83 \pm 1.76) 和 (10.45 \pm 2.36) μ mol/L, 阳性药地塞米松的 IC₅₀ 值为 (13.94 \pm

0.04) $\mu\text{mol/L}$ 。

5 讨论

研究报道啤酒花具有抗炎活性^[17]，本研究发现化合物 **1** 和 **4** 具有抗炎活性，且抗炎效果优于阳性药地塞米松，表明化合物 **1** 和 **4** 可能为啤酒花的抗炎药效物质，后续可对化合物 **1** 和 **4** 抗炎的动物药效及其成药性等方面进行深入研究。本研究进一步丰富了啤酒花的化学成分多样性，并为啤酒花在抗炎作用阐述方面提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 尹海波, 王颖, 郑太坤, 等. 中国葎草属植物的研究进展 [J]. 辽宁中医学院学报, 2001, 3(1): 60-61.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1998, 23(1): 221-221.
- [3] 朱恩俊. 酒花及酒花制品在啤酒工业中的应用 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(14): 3469-3471.
- [4] 朱丹, 牛广财, 姜述君, 等. 酒花的化学成分及药理作用 [J]. 中国药业, 2008, 17(21): 1-3.
- [5] Bocquet L, Sarpaz S, Hilbert J L, et al. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: Overview of its phytochemistry, its bioactivity, and its biotechnology [J]. *Phytochem Rev*, 2018, 17(5): 1047-1090.
- [6] 石妍婧, 赫军, 王利杰, 等. 啤酒花中的黄酮类成分 [J]. 中国药学杂志, 2023, 58(20): 1832-1838.
- [7] Larson A E, Yu R R, Lee O A, et al. Antimicrobial activity of hop extracts against *Listeria monocytogenes* in media and in food [J]. *Int J Food Microbiol*, 1996, 33(2/3): 195-207.
- [8] Van Cleemput M, Cattoor K, De Bosscher K, et al. Hop (*Humulus lupulus*)-derived bitter acids as multipotent bioactive compounds [J]. *J Nat Prod*, 2009, 72(6): 1220-1230.
- [9] Yen T L, Hsu C K, Lu W J, et al. Neuroprotective effects of xanthohumol, a prenylated flavonoid from hops (*Humulus lupulus*), in ischemic stroke of rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(8): 1937-1944.
- [10] Seliger J M, Misuri L, Maser E, et al. The hop-derived compounds xanthohumol, isoxanthohumol and 8-prenylnaringenin are tight-binding inhibitors of human aldo-keto reductases 1B1 and 1B10 [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2018, 33(1): 607-614.
- [11] Stevens J F, Page J E. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer: To your good health! [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(10): 1317-1330.
- [12] Stevens J F, Taylor A W, Nickerson G B, et al. Prenylflavonoid variation in *Humulus lupulus*: Distribution and taxonomic significance of xanthogalenol and 4'-O-methylxanthohumol [J]. *Phytochemistry*, 2000, 53(7): 759-775.
- [13] Tanaka R, Matsunaga S, Sasaki T. A new flavanone derivative from the leaves of *Tsuga diversifolia* [J]. *Planta Med*, 1989, 55(6): 570-571.
- [14] Zhao F, Watanabe Y, Nozawa H, et al. Prenylflavonoids and phloroglucinol derivatives from hops (*Humulus lupulus*) [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(1): 43-49.
- [15] Kim H J, Yim S H, Han F B, et al. Biotransformed metabolites of the hop prenylflavanone isoxanthohumol [J]. *Molecules*, 2019, 24(3): 394.
- [16] 张袁亚, 张治军, 叶瑞绒, 等. 越南槐根茎中的生物碱成分及其抗炎活性 [J]. 药学学报, 2021, 56(10): 2825-2829.
- [17] Zhao F, Nozawa H, Daikonnya A, et al. Inhibitors of nitric oxide production from hops (*Humulus lupulus* L.) [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(1): 61-65.

[责任编辑 王文倩]