

• 化学成分 •

黔产草珊瑚中 1 个新的木脂素化合物及其抗神经炎活性

王冬雨¹, 张妮^{2,3}, 娄华勇^{2,3}, 刘翰飞^{2,3}, 李金玉^{2,3*}, 潘卫东^{2*}

1. 贵州中医药大学研究生院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州医科大学药学院/省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014

3. 贵州省天然产物研究中心, 贵州 贵阳 550014

摘要: **目的** 研究黔产草珊瑚 *Sarcandra glabra* 的化学成分及抗神经炎活性。**方法** 通过硅胶、Sephadex LH-20、反相 ODS C₁₈ 柱色谱以及 HPLC 等多种方法进行提取分离化学成分, 并采用核磁共振波谱、质谱等方法对分离到单体化合物的结构进行鉴定。采用 Griess 法测试脂多糖诱导小鼠小胶质细胞 (BV-2 细胞) 释放炎症因子模型, 对化合物进行抗炎神经活性评价。**结果** 从黔产草珊瑚 95%乙醇提取物中分离并鉴定出 14 个化合物, 分别为 (7S,8S)-7,8,5',9'-四羟基-3'-甲氧基-3,4-亚甲基二氧基-1'-丙烷-新木脂素 (1)、臭矢菜素 D (2)、蛇菰宁 B (3)、松脂素 (4)、异美五针松二氢黄酮 (5)、7,4'-二甲氧基二氢黄酮 (6)、2',6'-二羟基-4'-甲氧基二氢查耳酮 (7)、3-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-3-(羟甲基)-7-甲氧基-2,3-二氢-1-苯并呋喃-5-基]丙基 (8)、异嗪皮啉 (9)、圣草酚 (10)、香豌豆酚 (11)、花柏色酮 (12)、6,7-二甲氧基香豆素 (13)、rel-(3R,3'S,4R,4'S)-3,3',4,4'-四氢-6,6'-二甲氧基(3,3'-bi-2H-苯并吡喃)-4,4'-二醇 (14)。抗神经炎实验结果显示, 化合物 1、3、5、6、8、10 和 11 均具有一定的抗神经炎活性, 其中化合物 1、3 和 8 对脂多糖刺激的 BV-2 细胞 NO 的生成极显著抑制作用, 其半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 为 2.71~8.80 μmol/L, 优于吲哚美辛。**结论** 化合物 1 为新的木脂素, 命名为草珊瑚素 A。化合物 2、3、8、10~12 及 14 均为首次从草珊瑚中分离得到, 且有 3 个化合物表现出良好的抗神经炎活性。

关键词: 草珊瑚; 草珊瑚素 A; 臭矢菜素 D; 蛇菰宁 B; 圣草酚; 香豌豆酚; 花柏色酮; 抗神经炎活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)22-7575-08

DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2024.22.001

One new lignan from *Sarcandra glabra* with anti-neuroinflammatory activitiesWANG Dongyu¹, ZHANG Ni^{2,3}, LOU Huayong^{2,3}, LIU Hanfei^{2,3}, LI Jinyu^{2,3}, PAN Weidong^{1,2}

1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China

3. Natural Products Research Center of Guizhou Province, Guiyang 550014, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Sarcandra glabra* and their anti-neuroinflammatory activities. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by means of silica gel, Sephadex LH-20, ODS C₁₈ column chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography (HPLC). Then their structures were elucidated by spectroscopic analyses (NMR, HRESIMS, and so on). All isolates were evaluated by Griess method for their anti-neuroinflammatory effect on inflammatory cytokine release model in microglia (BV-2 cells) stimulated by lipopolysaccharide (LPS). **Results** A total of fourteen compounds were isolated from 95% ethanol extract of *S. glabra* and identified as (7S,8S)-7,8,5',9'-tetrahydroxy-3'-methoxy-3,4-methylenedioxy-1'-propane-neolignan (1), cleomiscosin D (2), balanophonin B (3), pinonesinol (4), pinostrobin (5), 7,4'-dimethylnaringenin (6), 2',6'-dihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone (7), 3-[2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-7-methoxy-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl] propyl (8), isofraxidin (9), eriodictyol (10), orobol (11), sawarachromone (12), 6,7-dimethoxycoumarin (13), rel-(3R,3'S,4R,4'S)-3,3',4,4'-tetrahydro-6,6'-dimethoxy(3,3'-bi-2H-benzopyran)-4,4'-diol-4,4'-diol (14).

收稿日期: 2024-09-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32160102)

作者简介: 王冬雨 (1997—), 女, 河北石家庄人, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 2737748174@qq.com

*通信作者: 李金玉, 女, 副研究员, 主要从事中药民族药药用植物的化学成分与生物活性研究。E-mail: lijinyu20080@126.com

潘卫东, 男, 研究员, 主要从事民族药及喀斯特特色药用植物活性成分发现研究。E-mail: wdpan@163.com

In anti-neuroinflammatory assays, the results showed that the compounds **1**, **3**, **5**, **6**, **8**, **10** and **11** exhibited anti-neuroinflammatory activities, among which **1**, **3** and **8** significantly inhibited the production of the inflammatory mediator NO, with IC₅₀ values ranging from 2.71 μmol/L to 8.80 μmol/L, which was better than indomethacin. **Conclusion** Compound **1** was a new lignan, named sarcandrin A. Compounds **2**, **3**, **8**, **10**—**12** and **14** were obtained from this plant for the first time. Moreover, three compounds exhibited obvious inhibitory activity against nitric oxide production of the LPS-induced BV-2 cells.

Key words: *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai; sarcandrin A; anti-neuroinflammatory; cleomiscosin D; balanophonin B; eriodictyol; orobol; sawarachromone

草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 为金粟兰科草珊瑚属植物, 是传统中药肿节风的基原植物, 全草入药, 具有清热凉血、活血消斑、驱风通络的功效, 用于血热发斑发疹、风湿痹痛、跌打损伤等^[1]。草珊瑚在我国资源丰富, 主要分布于贵州、江西、云南、广东、广西、四川、福建、浙江、海南和安徽等地^[2]。现代药理研究表明草珊瑚具有良好的抗炎、抗疟、抗肿瘤、抗菌、抗氧化和神经保护等多重功效^[3]。

贵州作为草珊瑚主要产地之一, 民间较为广泛的应用草珊瑚。目前有关黔产草珊瑚化学成分分离纯化的研究尚不全面, 黔产草珊瑚中化学成分结构类型及其物质活性有待进一步探索。鉴于此, 本研究对黔产草珊瑚 95%乙醇提取物开展了分离纯化研究, 分离鉴定出 14 个化合物, 分别为 (7S,8S)-7,8,5',9'-四羟基-3'-甲基-3,4-亚甲基二氧基-1'-丙烷-新木脂素 [(7S,8S)-7,8,5',9'-tetrahydroxy-3'-methoxy-3,4-methylenedioxy-1'-propane-neolignan, **1**]、臭矢菜素 D (cleomiscosin D, **2**)、蛇菰宁 B (balanophonin B, **3**)、松脂素 (pinonesinol, **4**)、异美五针松二氢黄酮 (pinostrobin, **5**)、7,4'-二甲氧基二氢黄酮 (7,4'-dimethylnaringenin, **6**)、2',6'-二羟基-4'-甲氧基二氢查耳酮 (2',6'-dihydroxy-4'-methoxydihydrochalcone, **7**)、3-[2-(4-羟基-3-甲氧苯基)-3-(羟甲基)-7-甲氧基-2,3-二氢-1-苯并呋喃-5-基]丙基 (3-[2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-7-methoxy-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl]propyl, **8**)、异嗪皮啉 (isofraxidin, **9**)、圣草酚 (eriodictyol, **10**)、香豌豆酚 (orobol, **11**)、花柏色酮 (sawarachromone, **12**)、6,7-二甲氧基香豆素 (6,7-dimethoxycoumarin, **13**)、rel-(3R,3'S,4R,4'S)-3,3',4,4'-四氢-6,6'-二甲氧基(3,3'-bi-2H-苯并吡喃)-4,4'-二醇 [rel-(3R,3'S,4R,4'S)-3,3',4,4'-tetrahydro-6,6'-dimethoxy(3,3'-bi-2H-benzopyran)-4,4'-diol-4,4'-diol, **14**]。其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**、**3**、**8**、**10**~**12** 及 **14** 为首次从草珊瑚中分离得到。并采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激的 BV-2 细胞模型评估 14 个单体化合物

的抗神经炎活性, 以期为黔产草珊瑚的进一步开发和利用提供数据。

1 材料

1.1 材料

样品于 2022 年 12 月, 在贵州省铜仁市德江县采集草珊瑚全草, 晒干后保存、备用。标本由贵州省天然产物研究中心的张妮教授鉴定为金粟兰科草珊瑚属植物草珊瑚 *S. glabra* (Thunb.) Nakai, 标本 (CSH20221213) 保存于贵州天然产物研究中心

柱色谱正相色谱硅胶 (60~80、200~300、300~400 目)、薄层色谱正相硅胶板, 青岛海洋化工有限公司产品; 凝胶 Sephadex LH-20 为瑞典 Amersham Biosciences 公司生产。

1.2 仪器与试剂

Bruker Avance NEO 600 MHz 超导核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); QE Focus 型串联四极杆飞行时间液质谱联用仪 (赛默飞世尔科技有限公司); Agilent 1200 高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); Hei-VAP Digital G3 型旋转蒸发仪 (德国 Heidolph 公司); DLSB-5/20 低温冷却液循环泵 (郑州长城科工贸有限公司); 安捷伦 ZORBAXSB-C₁₈ 半制备柱色谱柱 (250 mm×9.4 mm, 5 μm, 美国安捷伦科技有限公司); ME204E/02 型电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); 色谱甲醇、氘代甲醇 [萨恩化学技术 (上海) 有限公司]; 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

HF90 (90) 型二氧化碳细胞培养恒温箱 (上海力申科学仪器有限公司); SN-CJ-2FDQ 型超净工作台 (浙江孚夏医疗科技有限公司); TGL-16.5M 高速离心机 (上海卢湘仪离心机仪器有限公司); ICX41 倒置显微镜 (浙江舜宇光学科技有限公司); FC 型酶标仪 (美国赛默飞世尔科技公司); YXQ-50SII 型立式压力蒸汽灭菌锅 (上海博迅医疗生物仪器股份有限公司); 11510 细胞培养板 (北京兰杰柯科技有限公司); DMEM 高糖培养基 (Gibco); 脂多糖 (Solarbio); 胰蛋白 (Solarbio);

小鼠小胶质细胞 BV-2 (苏州海星生物科技有限公司); PBS 缓冲液 (武汉赛维尔生物科技有限公司); NO 试剂盒 (上海碧云天生物科技有限公司); 吲哚美辛 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 J12HS184261)。

2 方法

2.1 提取与分离

将晒干的黔产草珊瑚样品 (85 kg) 粉碎成粗粉, 用体积分数 95% 乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h, 减压浓缩至无醇味, 得到总浸膏。将总浸膏分散于水中, 依次用石油醚 (分析纯)、醋酸乙酯 (分析纯) 萃取, 分别得到石油醚部位 (1.9 kg)、醋酸乙酯部位 (3.3 kg)。石油醚部位 (1.9 kg) 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱, TLC 合并后得到 12 个组分 Fr. A₁~A₁₂, 其中 Fr. A₄、A₇、A₉ 组分均有不溶物析出, 分别洗涤不溶物后得到化合物 5 (111.5 mg)、6 (88.0 mg)、7 (93.5 mg)。

醋酸乙酯部位 (3.3 kg) 经硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, TLC 合并后得到 19 个组分 (Fr. B₁~B₁₉)。其中 Fr. B₆ (102.5 g) 组分通过 C₁₈ 反相柱色谱以 40%~100% 甲醇梯度洗脱, TLC 合并后得到 13 个组分 Fr. B₆₋₁~B₆₋₁₃, 其中 Fr. B₆₋₄、B₆₋₈ 组分分别经结晶后得到化合物 9 (108.3 mg) 和 2 (23.5 mg)。组分 Fr. B₆₋₉ (7.3 g) 经正相硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1→1:1) 梯度洗脱得 10 个组分 Fr. B₆₋₉₋₁~B₆₋₉₋₁₀。组分 B₆₋₉₋₆ (305.5 mg) 先后经半制备型高效液相 (甲醇-水 60:40, 2 mL/min)、HPLC 纯化 (甲醇-水 55:45, 2 mL/min) 得到化合物 1 (2.0 mg)、3 (21.0 mg)、4 (23.5 mg) 和 8 (6.5 mg) 组分 B₆₋₉₋₇ 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 和 HPLC 色谱 (甲醇-水 60:40, 2 mL/min) 分离得到化合物 10 (17.0 mg) 和 11 (20.0 mg)。组分 Fr. B₆₋₈ (7.3 g) 经正相硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯 (10:1→1:1) 梯度洗脱得 11 个组分 Fr. B₆₋₈₋₁~B₆₋₈₋₁₁。组分 B₆₋₈₋₇ (1.9 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 和重结晶后得到化合物 12 (16.9 mg) 和 13 (7.7 mg)。组分 B₆₋₈₋₅ (164.2 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 和 HPLC 色谱 (甲醇-水 43:57, 2 mL/min) 分离得到化合物 14 (5.7 mg)。

2.2 抗神经炎活性

本实验采用 LPS 诱导的小鼠小胶质细胞 (BV-2

细胞) 炎症模型, 采用 Griess 法测定分离得到的 14 个化合物对 LPS 诱导下 BV-2 细胞产生 NO 的抑制活性。用 DMEM 高糖培养基 [含 10% 胎牛血清 (FBS)、青霉素链霉素双抗] 培养 BV-2 细胞, 并将细胞置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中进行传代培养。取对数生长期状态良好的 BV-2 细胞, 制备细胞混悬液, 血球计数板计数, 稀释至 2.5×10⁴ 个/mL, 以 90 μL/孔将细胞混悬液接种于 96 孔板上, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养 24 h。在 96 孔板中设置空白对照组、模型组和加药组, 每组均设 3 个复孔, 其中空白对照组和模型组各只设 1 组, 其他均为给药组。

2.2.1 细胞毒性评价 化合物用培养基稀释至 500 μmol/L, 以 10 μL/孔加药。于 37 °C、5% CO₂ 环境下孵育 2 h 后, 模型组和加药组每孔均加入 10 μL LPS (10 μg/mL)。细胞培养 24 h 后每孔加入 10 μL MTT 染色剂, 继续培养 4 h, 吸去上清液, 加入 150 μL DMSO, 测定吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

2.2.2 抗神经炎活性评价 化合物用培养基稀释至 200 μmol/L, 以 10 μL/孔加药。于 37 °C、5% CO₂ 环境下孵育 2 h 后, 模型组和加药组每孔均加入 10 μL 质量浓度为 10 μg/mL 的 LPS。继续在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后, 吸取每孔各 50 μL 的上清液, 按照 NO 试剂盒说明书操作步骤, 用酶标仪在 540 nm 下检测各孔 A 值, 计算化合物对 NO 生成的抑制率。实验重复 3 次, 计算平均值。再选取 NO 抑制率大于 60% 的化合物, 用培养基稀释成 6 个不同浓度的样品, 重复上述步骤, 测得 A 值, 每次实验均设吲哚美辛阳性对照, 以浓度为横坐标, NO 抑制率为纵坐标绘制细胞生长曲线, 应用两点法 (Reed and Muench 法) 计算化合物的 IC₅₀ 值, 实验共重复 3 次, 结果取平均值。

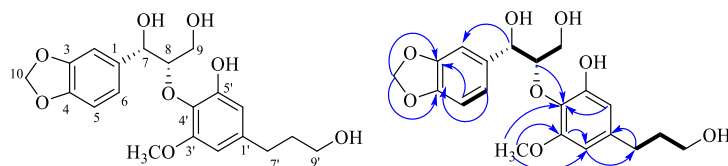
3 结果与分析

3.1 化合物鉴定

化合物 1: 无色油状物, 易溶于甲醇, $[\alpha]_D^{25}$ -50.7° (c 0.048, MeOH), UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 285.1 (3.41)。高分辨质谱 HR-ESI-MS 显示分子离子峰 m/z 393.169 8 [M+H]⁺ (计算值 C₂₀H₂₅O₈, 393.154 4), 结合该化合物氢谱和碳谱确定其分子式为 C₂₀H₂₄O₈, 有 9 个不饱和度。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 谱 (表 1) 显示有 1 个明显的甲氧基信号 δ_H 3.88 (3H, s), 1 个亚甲二氧基质子信号 δ_H 5.94 (2H, s) 和 5 个芳香氢信号 δ_H 6.89 (1H, d, J = 1.8 Hz), 6.87 (1H, dd, J = 8.0,

表 1 化合物 1 的核磁共振氢谱和碳谱数据 (600/150 MHz, CDCl₃)Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound 1 (600/150 MHz, CDCl₃)

碳位	δ _C	δ _H
1	135.6	
2	106.6	6.89 (1H, d, <i>J</i> = 1.8 Hz)
3	148.1	
4	146.7	
5	108.3	6.76 (1H, d, <i>J</i> = 7.8 Hz)
6	119.8	6.87 (1H, dd, <i>J</i> = 8.0, 1.8 Hz)
7	87.7	5.54 (1H, d, <i>J</i> = 6.0 Hz)
8	54.2	3.55 (1H, dd, <i>J</i> = 8.4, 6.0 Hz)
9	64.4	3.93 (2H, m)
10	101.2	5.94 (2H, s)
1'	135.6	
2'	112.6	6.66 (1H, d, <i>J</i> = 3.3 Hz)
3'	144.3	
4'	127.5	
5'	147.6	
6'	116.2	6.66 (1H, d, <i>J</i> = 3.3 Hz)
7'	32.1	2.67 (2H, m)
8'	34.8	1.89 (2H, m)
9'	62.5	3.70 (2H, t, <i>J</i> = 6.3 Hz)
3'-OMe	56.2	3.88 (3H, s)

图 1 化合物 1 的关键 HMBC (—) 和 ¹H-¹H COSY (—) 相关Fig.1 Key HMBC(—) and ¹H-¹H COSY (—) correlations of compound 1

此外根据 H-7 和 H-8 的偶合常数为 6.0 Hz (>5.0 Hz), 以及比旋光度确定化合物 1 的绝对构型为 7*S*, 8*S*^[5-7], 化合物鉴定为(7*S*,8*S*)-1-(3,4-methylenedioxy)-2-*O*-(6-hydroxy-2-methoxy-4-omegahydroxy-propylphenyl) propane-1,3-diol, 经 Scifinder 数据库检索为新化合物, 命名为草珊瑚素 A。

化合物 2: 白色针晶(甲醇), ESI-MS *m/z*: 415.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₁H₂₀O₉。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.92 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-4), 6.87 (1H, s, H-5), 6.75 (2H, s, H-2', 6'), 6.32 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3), 5.11 (1H, t, *J* = 5.4 Hz, H-8'), 4.96 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-7'), 4.36 (1H, m, H-9'a), 3.78 (3H, s,

1.8 Hz), 6.76 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.66 (1H, d, *J* = 3.3 Hz)。此外, ¹³C-NMR 数据(表 1)以及 HSQC 数据显示化合物 1 中共有 20 个碳信号, 包括 1 个甲氧基 δ_C 56.2 和 5 个亚甲基, 其中包括 3 个含氧亚甲基 δ_C 62.5, 64.4, 101.2; 7 个次甲基分别为 2 个含氧次甲基 δ_C 54.2, 87.7 以及 5 个 sp² 杂化次甲基碳信号 δ_C 106.6, 108.3, 112.6, 116.2, 119.8; 以及 7 个 sp² 季碳, 分别为 5 个连氧季碳 δ_C 127.5, 144.3, 146.7, 147.6, 148.1 和 2 个不连氧季碳信号 δ_C 135.6, 135.6。结合以上数据可以确认该化合物为 1,3,4-三取代苯环和四取代苯环的木脂素类化合物。进一步分析其二维核磁谱图发现化合物 1 与已知化合物 (7*S*,8*S*)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-*O*-(6-hydroxy-2-methoxy-4-omega-hydroxy-propylphenyl)propane-1,3-diol 相似^[4], 主要差异为化合物 1 的 C-3 和 C-4 由亚二氧基取代, 而已知化合物中的 C-3 和 C-4 分别由甲氧基和羟基取代。结合其 HR-ESIMS 发现化合物 1 比已知化合物多 1 个不饱和度, 进一步结合 HMBC 谱图(图 1)中 H-10 与 C-3 (δ_C148.1) 和 C-4 (δ_C146.7) 相关, 可推测 C-3 和 C-4 位为亚甲二氧基取代的含氧五元环。再根据 ¹H-¹H COSY 谱(图 1)中 H-5/H-6、H-7/H-8/H-9、H-7'/H-8'/H-9'的相关信号, 确定化合物 1 的平面结构。

6-OCH₃), 3.76 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.67 (1H, m, H-9'b); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 160.2 (C-2), 148.2 (C-3', 5'), 145.5 (C-6), 145.0 (C-4), 138.2 (C-9), 137.2 (C-7), 136.4 (C-4'), 131.9 (C-8), 125.9 (C-1'), 113.4 (C-3), 111.5 (C-10), 105.8 (C-2', 6'), 100.9 (C-5), 78.0 (C-8'), 76.8 (C-7'), 60.1 (C-9'), 56.3 (3', 5'-OCH₃), 56.0 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定该化合物为臭矢菜素 D。

化合物 3: 无定型粉末, ESI-MS *m/z*: 371.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₀H₂₀O₇。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 6.96 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-3'), 6.94 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-3), 6.92 (1H, dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, H-5'),

6.85 (1H, dd, $J = 8.1, 2.1$ Hz, H-5), 6.82 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6), 5.39 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7'), 5.23 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7), 4.28 (1H, m, H-9'), 4.02 (1H, m, H-9'), 3.87 (3H, s, 2'-OCH₃), 3.86 (3H, s, 2-OCH₃), 3.66 (1H, m, H-8'), 3.35 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-8); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 179.7 (C-9), 149.4 (C-2'), 149.2 (C-2), 148.2 (C-1'), 147.4 (C-1), 133.2 (C-4'), 132.4 (C-4), 119.8 (C-5'), 119.5 (C-5), 116.4 (C-6'), 116.1 (C-6), 110.6 (C-3'), 110.5 (C-3), 87.2 (C-7'), 85.1 (C-7), 73.8 (C-9'), 56.5 (C-8'), 56.4 (2'-OCH₃), 54.4 (2-OCH₃), 51.0 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定该化合物为蛇菰宁 B。

化合物 4: 无定型粉末, ESI-MS m/z : 357.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₀H₂₂O₆。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.95 (2H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2, 2'), 6.79 (4H, m, H-5, 6, 5', 6'), 4.71 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7, 7'), 4.23 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.86 (8H, s, 3, 3'-OCH₃, H-9b, 9'b), 3.84 (2H, dd, $J = 9.0, 3.6$ Hz, H-9b, 9'b), 3.14 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 149.1 (C-3, 3'), 147.3 (C-4, 4'), 133.8 (C-1, 1'), 120.1 (C-6, 6'), 116.1 (C-5, 5'), 110.9 (C-2, 2'), 87.5 (C-7, 7'), 72.6 (C-9, 9'), 56.4 (C-8, 8'), 55.4 (3, 3'-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定该化合物为松脂素。

化合物 5: 黄色针晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 269.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₆H₁₄O₄。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.43 (5H, m, H-2'~6'), 6.07 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.05 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5.40 (1H, dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, H-2), 3.79 (3H, s, 7-OCH₃), 3.06 (1H, dd, $J = 16.5, 12.0$ Hz, H-3), 2.80 (1H, dd, $J = 16.5, 3.0$ Hz, H-3); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 195.8 (C-4), 168.0 (C-7), 164.2 (C-5), 162.8 (C-9), 138.4 (C-1'), 128.9 (C-2', 6'), 126.2 (C-4'), 126.2 (C-3', 5'), 103.2 (C-10), 95.2 (C-6), 94.3 (C-8), 79.2, (C-2), 55.7 (7-OCH₃), 43.4 (C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定该化合物为异美五针松二氢黄酮。

化合物 6: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 299.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₇H₁₆O₅。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 12.04 (1H, s, 5-OH), 7.38 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.95 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.07 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.04 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5.36 (1H,

dd, $J = 13.2, 3.0$ Hz, H-2), 3.83 (3H, s, 7-OCH₃), 3.80 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.09 (1H, dd, $J = 18.0, 13.2$ Hz, H-3a), 2.79 (1H, dd, $J = 17.4, 3.0$ Hz, H-3b); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 196.2 (C-4), 168.1 (C-7), 164.2 (C-5), 163.0 (C-9), 160.2 (C-4'), 130.5 (C-1'), 127.9 (C-2'), 114.3 (C-3'), 103.2 (C-10), 95.2 (C-6), 94.3 (C-8), 79.1, (C-2), 55.8 (7-OCH₃), 55.5 (4'-OCH₃), 43.3 (C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定该化合物为 7,4'-二甲氧基二氢黄酮。

化合物 7: 淡黄色针晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 271.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₆H₁₆O₄。 ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.23 (5H, m, H-2~5), 5.97 (1H, s, H-3'), 3.74 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.32 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H- α), 2.90 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H- β); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 204.5 (C- β'), 165.5 (C-2', 4', 6'), 141.6 (C-1), 128.4 (C-3, 5), 128.4 (C-2, 6), 125.9 (C-4), 104.6 (C-1'), 93.3 (C-3', 5'), 55.4 (4'-OCH₃), 45.3 (C- α), 30.1 (C- β)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定该化合物为 2',6'-二羟基-4'-甲氧基二氢查耳酮。

化合物 8: 无色油状液体, ESI-MS m/z : 401.2 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₂H₂₆O₇。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.95 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.82 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.72 (2H, s, H-4, 6), 5.50 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-2), 4.07 (2H, m, H-10), 3.85 (3H, s, 7-OCH₃), 3.83 (1H, dd, $J = 12.9, 6.0$ Hz, H-13), 3.81 (3H, s, 3'-OCH₃), 2.65 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, H-8), 2.03 (3H, s, H-12), 1.92 (2H, m, H-9); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 173.1 (C-11), 149.1 (C-3'), 147.7 (C-4'), 147.5 (C-7a), 145.3 (C-7), 136.1 (C-5), 134.7 (C-1'), 130.0 (C-3a), 119.7 (C-6'), 117.9 (C-4), 116.1 (C-5'), 114.0 (C-6), 110.5 (C-2'), 89.0 (C-2), 65.0 (C-13), 65.0 (C-10), 56.7 (3'-OCH₃), 56.3 (7-OCH₃), 55.4 (C-3), 32.9 (C-8), 31.8 (C-9), 20.8 (C-12)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定该化合物为 3-[2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-(hydroxymethyl)-7-methoxy-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl]propyl。

化合物 9: 白色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 221.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₁H₁₀O₅。 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.79 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 6.84 (1H, s, H-5), 6.19 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 3.93 (3H, s, 6-OCH₃), 3.88 (3H, s, 8-OCH₃); ¹³C-NMR (150

MHz, CD₃OD) δ : 163.2 (C-2), 147.2 (C-6), 146.3 (C-4), 145.4 (C-9), 144.4 (C-7), 135.9 (C-8), 112.6 (C-3), 112.0 (C-10), 104.8 (C-5), 61.5 (8-OCH₃), 56.7 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定该化合物为异嗟皮啉。

化合物 **10**: 黄色无定型固体, ESI-MS m/z : 287.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₅H₁₂O₆。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.92 (1H, brs, H-2'), 6.79 (2H, m, H-5', 6'), 5.90 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 5.88 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-6), 5.28 (1H, dd, J = 12.6, 3.0 Hz, H-2), 3.07 (1H, dd, J = 17.1, 12.9 Hz, H-3), 2.69 (1H, dd, J = 17.1, 3.0 Hz, H-3); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 197.8 (C-4), 168.4 (C-7), 164.8 (C-5), 164.8 (C-9), 146.9 (C-4'), 146.5 (C-3'), 131.8 (C-1'), 119.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 114.7 (C-2'), 103.3 (C-10), 97.0 (C-6), 96.2 (C-8), 80.5 (C-2), 44.1 (C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定该化合物为圣草酚。

化合物 **11**: 浅褐色粉末, ESI-MS m/z : 285.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₅H₁₀O₆。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.02 (1H, s, H-2), 7.02 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.84 (1H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.32 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 182.2 (C-4), 166.2 (C-5), 163.8 (C-7), 159.7 (C-9), 154.8 (C-2), 146.8 (C-4'), 146.2 (C-3'), 124.8 (C-3), 123.8 (C-1'), 121.7 (C-6'), 117.4 (C-2'), 116.3 (C-5'), 106.2 (C-10), 100.2 (C-6), 94.8 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定该化合物为香豌豆酚。

化合物 **12**: 细小针晶(甲醇), ESI-MS m/z : 305.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₅H₁₄O₇。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.64 (1H, s, 5-OH), 6.45 (1H, s, H-3), 6.31 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 4.34 (1H, dd, J = 8.4, 6.3 Hz, H-3'), 3.60 (3H, s, COOCH₃), 3.07 (1H, dd, J = 17.1, 8.4 Hz, H-2'a), 2.87 (1H, dd, J = 17.1, 6.3 Hz, H-2'b), 2.25 (3H, s, H-5'); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 202.7 (C-4'), 181.6 (C-4), 171.2 (C-1'), 164.9 (C-2), 164.4 (C-7), 161.5 (C-5), 157.7 (C-9), 109.7 (C-3), 103.8 (C-10), 99.1 (C-6), 94.0 (C-8), 52.8 (C-3'), 51.8 (COOCH₃), 32.2 (C-2'), 28.7 (C-5')。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定该化合物为花柏色酮。

化合物 **13**: 无色针晶(甲醇), ESI-MS m/z : 205.0

[M-H]⁻, 分子式为 C₁₁H₁₀O₄。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.62 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-4), 6.85 (1H, s, H-5), 6.84 (1H, s, H-8), 6.29 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-3), 3.95 (3H, s, 7-OCH₃), 3.92 (3H, s, 6-OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 161.6 (C-2), 153.0 (C-7), 150.1 (C-9), 146.5 (C-6), 143.5 (C-4), 113.7 (C-10), 111.6 (C-3), 108.0 (C-5), 100.1 (C-8), 56.5 (6-OCH₃), 56.5 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定该化合物为 6,7-二甲氧基香豆素。

化合物 **14**: 无色油状液体, ESI-MS m/z : 357.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₀H₂₂O₆。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 6.90 (2H, d, J = 1.8 Hz, H-2, 2'), 6.88 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-5, 5'), 6.82 (2H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz, H-4, 4'), 4.74 (2H, d, J = 1.8 Hz, H-7, 7'), 4.24 (2H, dd, J = 9.6, 6.9 Hz, H-9a, 9a'), 3.88 (2H, dd, J = 9.3, 3.6 Hz, H-9b, 9b'), 3.10 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 146.8 (C-3, 3'), 145.4 (C-6, 6'), 133.0 (C-1, 1'), 119.1 (C-4, 4'), 114.4 (C-5, 5'), 108.7 (C-2, 2'), 86.0 (C-7, 7'), 71.8 (C-9, 9'), 56.1 (3, 3'-OCH₃), 54.3 (C-8, 8')。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定该化合物为 *rel*-(3*R*,3'*S*,4*R*,4'*S*)-3,3',4,4'-tetrahydro-6,6'-dimethoxy(3,3'-bi-2*H*-benzopyran)-4,4'-diol。

3.2 抗神经炎活性实验结果

采用 LPS 刺激的 BV-2 细胞模型评估此次分离得到 14 个单体化合物的抗神经炎活性, 并采用 MTT 法进行了细胞毒性实验。与空白对照组相比, 14 个化合物在浓度 50 μ mol/L 时细胞存活率均大于 80%。实验结果表明, 在给药浓度为 20 μ mol/L 时, 化合物 **1**、**3**、**5**、**6**、**8**、**10** 和 **11** 均对诱导小鼠小胶质细胞 (BV-2 细胞) 中 NO 的产生有不同程度的抑制作用。对其中抑制率大于 60% 的化合物计算半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀), 化合物 **1**、**3**、**8** 对 NO 的产生有很强的抑制作用, IC₅₀ 值分别为 2.71、3.11、8.80 μ mol/L [阳性对照吗啡美辛 IC₅₀ = (36.43 $\pm$ 3.54) μ mol/L]; 化合物 **6**、**10** 和 **11** 表现出中等抑制活性, IC₅₀ 值分别为 35.80、12.93、17.23 μ mol/L。结果见表 2、3。

4 讨论

神经炎症是由中枢神经系统发起的一种免疫反应, 旨在保护大脑免受损伤, 在神经退行性疾病的发生和发展中起着重要作用。BV-2 细胞是中枢神经系统中固有的免疫细胞, 可以保护处于静息状态的

表 2 化合物 1~14 对 LPS 诱导的 BV-2 细胞中 NO 产生的抑制作用

Table 2 Inhibitory effect of 1—14 on LPS-induced NO production in BV-2 cells

化合物	抑制率/%	化合物	抑制率/%
1	71.89±1.39	8	95.38±1.14
2	<50	9	<50
3	95.72±2.49	10	69.09±0.40
4	<50	11	62.37±3.64
5	51.52	12	<50
6	70.00±4.97	13	<50
7	<50	14	<50

表 3 化合物 1、3、6、8、10 和 11 对 LPS 诱导的 BV-2 细胞中 NO 产生的半数抑制浓度

Table 3 IC₅₀ of compounds 1, 3, 6, 8, 10 and 11 on LPS-induced NO production in BV-2 cells

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
1	8.80±0.82
3	2.71±0.70
6	35.80±0.61
8	3.11±1.42
10	12.93±1.57
11	17.23±1.00
吲哚美辛	36.43±3.81

神经元^[21-22]。当中枢神经系统受损时会释放出大量促炎介质，使小胶质细胞活化释放出更多的促炎因子，进一步加重炎症反应，导致神经损伤^[23]。因此，抑制神经胶质细胞过度活化引起的炎症反应对神经退行性疾病的治疗具有重要意义。

本研究从黔产草珊瑚全草的 95%乙醇提取物中分离鉴定得到了 14 个化合物，包括 4 个木脂素类化合物、2 个香豆素类化合物、6 个黄酮类化合物以及 2 个其他类化合物，并且对所有的化合物进行 LPS 诱导 BV-2 炎症模型 NO 的产生的抑制活性评价。结果显示，化合物 1、3、5、6、8、10 和 11 均表现出良好的抗神经炎活性，其中化合物 1、3、8 具有优异的抗神经炎活性（IC₅₀ 值均小于 10 μmol/L，远优于阳性药吲哚美辛）。本课题对黔产草珊瑚的化学成分及其抗神经炎活性的研究丰富了黔产草珊瑚的化学成分，为黔产草珊瑚抗神经炎活性成分的发现和进一步开发利用提供了研究依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 282.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 20 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1982: 79.
- [3] 张力丹, 于畅, 庞欣怡, 等. 肿节风及其复方制剂临床应用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2023, 19(3): 252.
- [4] Jun L, Min S Y, Sang H N, et al. Lignans from the flower buds of *Magnolia fargesii* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2005, 26(6): 913-915.
- [5] Xu K, Yang P F, Yang Y N, et al. Direct assignment of the threo and erythro configurations in polyacetylene glycosides by ¹H-NMR spectroscopy [J]. *Org Lett*, 2017, 19(3): 686-689.
- [6] Cutillo F, D'Abrosca B, DellaGreca M, et al. Lignans and neolignans from *Brassica fruticulosa*: Effects on seed germination and plant growth [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(21): 6165-6172.
- [7] Besombes S, Robert D, Utille J P, et al. Molecular modeling of syringyl and *p*-hydroxyphenyl beta-O-4 dimers. Comparative study of the computed and experimental conformational properties of lignin beta-O-4 model compounds [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(1): 34-42.
- [8] 王绍军, 吴闯, 赵赶. 帘子藤藤茎化学成分研究 [J]. 中药材, 2016, 39(2): 326-328.
- [9] Yang B Y, Luo Y M, Liu Y, et al. New lignans from the roots of *Datura metel* L [J]. *Phytochem Lett*, 2018, 28: 8-12.
- [10] 陆雨, 江石平, 孙冬雪, 等. 诺丽醇素化学成分及其抗肿瘤活性研究 [J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(18): 1552-1556.
- [11] Salleh W, Shakri N M, Jauri M H, et al. Alkaloids and flavonoids from *Polyalthia cauliflora* [J]. *Chem Nat Compd*, 2022, 58(5): 986-988.
- [12] 陈芳有, 陈志超, 黄伟明, 等. 丝穗金粟兰化学成分及其神经保护活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(8): 1333-1338.
- [13] Suyatno S, Nurul H, Andika P. Secondary metabolites isolated from the dichloromethane extract of silver fern (*Pityrogramma calomelanos*) [J]. *Res J Pharm Biol. Chem Sci*, 2018, 9(1): 566-570.
- [14] Chen J X, Huang S H, Wang L, et al. Two pairs of enantiomeric neolignans from *Lobelia chinensis* [J]. *Nat Prod Commun*, 2010, 5(10): 1627-1630.
- [15] 金冠, 何芷芸, 张志麒, 等. 睡菜醋酸乙酯部位化学成分及其神经保护作用研究 [J]. 中草药, 2022, 53(4): 985-992.
- [16] Júnior G M V, Sousa C M M, Cavaleiro A J, et al. Phenolic derivatives from fruits of *Dipteryx lacunifera*

- ducke and evaluation of their antiradical activities [J]. *Helv Chim Acta*, 2008, 91(11): 2159-2167.
- [17] Elgindi M R, Mabry T J, Melek F R, *et al.* Isoflavones and a phenylethanoid from *Verbascum sinaiticum* [J]. *Asian J Chem*, 1999, 11(4): 1534-1536.
- [18] 汤迎湛, 刘菊妍, 江振洲, 等. 土茯苓总苷化学成分研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(22): 6977-6984.
- [19] 陈芳有, 陈志超, 刘洋, 等. 草珊瑚地上部分化学成分研究 [J]. *中药材*, 2022, 45(4): 862-865.
- [20] Dong M, Liu D, Li H M, *et al.* Chemical compounds from *Swertia bimaculata* [J]. *Chem Nat Compd*, 2018, 54(5): 964-969.
- [21] 李晓星, 刘艺, 许博成, 等. 具有神经保护活性的中药治疗缺血性脑卒中的研究进展 [J]. *世界中医药*, 2023, 18(22): 3294-3298.
- [22] Zhan Z C, Xia Y P, Tang Q, *et al.* Lindenane sesquiterpenoid dimers from *Chloranthus holostegius* with anti-neuroinflammatory activities in BV-2 microglia [J]. *Phytochemistry*, 2023, 215: 113859.
- [23] Yang Z, Li D, Dai X Y, *et al.* Tinopanoids K-T, clerodane diterpenoids with anti-inflammatory activity from *Tinospora crispa* [J]. *Bioorg Chem*, 2023, 140: 106812.

[责任编辑 王文倩]