

## 华中五味子中一个新的糖苷类化合物及活性研究

季嘉诚, 邱峰, 雷新响\*

中南民族大学药学院, 武汉 430074

**摘要:**为研究华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.)的化学成分以及活性,利用正相硅胶色谱、反相硅胶色谱、半制备 HPLC 等方法从华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.)藤茎中分离、纯化得到 7 个化合物并通过波谱数据鉴定了其结构。经鉴定分别为 6''-O-对羟基苯甲酰红景天苷(**1**)、nectandrin B(**2**)、7-(3,4-dimethoxyphenyl)-7'(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-8,8'(dimethylbutyl) acetate(**3**)、henricine B(**4**)、(8*R*,8'*R*)-3,4-dimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7,7'-dioxo-8,8'-neolignan(**5**)、secoisolariciresinol(**6**)、calceolarioside B(**7**)。其中化合物**1**为新化合物,化合物**1**、**6**、**7**具有较好的 NO 释放的抑制作用。

**关键词:**华中五味子;糖苷类;木脂素;结构鉴定;活性研究

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)1-0070-05

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.1.010

## A new glycoside compound from *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. and its activity

Ji Jia-cheng, Qiu Feng, Lei Xin-xiang\*

School of Pharmacy, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China

**Abstract:** To study the chemical constituents and activities of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.. The constituents were isolated and purified with normal phase silica gel chromatography, reversed phase silica gel chromatography and semi-preparative HPLC methods from the bark of dried stems of *S. sphenanthera*, which were identified by spectral data. They were identified as 6''-O-p-hydroxybenzoyl salidroside(**1**), nectandrin B(**2**), 7-(3,4-dimethoxyphenyl)-7'(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-8,8'(dimethylbutyl) acetate(**3**), henricine B(**4**), (8*R*,8'*R*)-3,4-dimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7,7'-dioxo-8,8'-neolignan(**5**), secoisolariciresinol(**6**), calceolarioside B(**7**). Compound **1** is a new compound. Compounds **1**, **6** and **7** have good inhibitory effects on NO release.

**Key words:** *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.; glycosides; lignans; structural identification; activity study

华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.)为木兰科(Magnoliaceae)五味子属(*Schisandra*)植物,主要产于湖北、湖南、四川、贵州、云南东北部等地区,生于海拔 600-3000 米的湿润山坡边或灌丛中<sup>[1]</sup>。根据现代研究表明,华中五味子具有中枢神经系统镇静、PAF 拮抗、延缓衰老、清除自由基、抑制过氧化脂质形成、抗炎、抗 HIV 等药理作用<sup>[2]</sup>。其中,任荣从华中五味子中分离得到的 methylgomisin O 和 schisantherin A 具有抗炎活性作用<sup>[3]</sup>; Gao

等<sup>[4]</sup>人从华中五味子中分离得到的 anwulignan 具有较好的肝保护作用; Liu 等<sup>[5]</sup>从华中五味子中分离得到的 schisphenthin A 等三萜类化合物具有抗增殖作用,分离得到的 schisphenlignan L 等木脂素类化合物具有神经保护作用。

因此,华中五味子中仍具有待发现、活性较好的成分。鉴于华中五味子果实的研究较多,本实验选取华中五味子藤茎,对其化学成分和活性进行了较为系统的研究。从中分离得到 7 个化合物,通过波谱学数据鉴定了其化学结构,分别为:6''-O-对羟基苯甲酰红景天苷(**1**)、nectandrin B(**2**)、7-(3,4-dimethoxyphenyl)-7'(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-8,8'(dimethylbutyl) acetate(**3**)、henricine B(**4**)、(8*R*,8'*R*)-3,4-dimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7,7'-dioxo-

收稿日期:2019-09-29 接受日期:2019-12-20

基金项目:中南民族大学科研启动基金(YZZ16001)

\* 通信作者 Tel:86-27-67841196; Email:xxlei@mail.scuec.edu.cn

8,8'-neolignan(**5**)、secoisolariciresinol(**6**)、calceolarin-  
oside B(**7**)。化合物**1**为新化合物,化合物**1**、**6**、**7**具  
有较好的 NO 释放的抑制作用。

### 1 仪器与材料

Bruker AM-600 型核磁共振光谱仪(德国 Bruker 公司);Agilent 1260 II 型 HPLC(Agilent 公司),色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱(4.6 × 250 mm),粒径 5 μm;半制备柱 Venusil XBP C<sub>18</sub>柱(10 × 250 mm),粒径 5 μm;TBP-5010 型中压柱(上海同田生物技术股份有限公司);柱色谱硅胶(200 ~ 300 目,青岛海洋化工厂);薄层硅胶板(青岛海洋化工厂);95%乙醇(武汉兴和达商贸有限公司);反相硅胶 Chromatopores(日本 Fuji 公司);石油醚(化学纯,上海泰坦化学有限公司);乙酸乙酯(化学纯,上海泰坦化学有限公司);甲醇(化学纯,上海泰坦化学有限公司);色谱甲醇(SIGMA 公司);色谱乙腈(成都科隆化学有限公司)。

小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7,购自中科院细胞库;吡啶美辛(阿拉丁公司);NO 检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);LPS(上海源叶生物科技有限公司)。

华中五味子由中南民族大学药学院杨光忠教授鉴定为华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. 的藤茎。

### 2 提取与分离

将华中五味子藤茎晒干,粉碎后称重,得 10 kg。随后用 25 升 95% 乙醇在室温下渗漉提取 3 次,每次 4 天。将提取液进行抽滤,除去药渣,在进行浓缩,得浸膏。浸膏用乙酸乙酯进行萃取,萃取三次。将萃取液减压浓缩后得乙酸乙酯部位 168 g。用 300 g 正相柱硅胶(200 ~ 300 目)拌样,3 000 g 正相柱硅胶(200 ~ 300 目)湿法装柱,采用干法上样,进行柱层析。用石油醚-乙酸乙酯体系(体积比 15:1 → 0:1)进行梯度洗脱,根据 TLC 检测后的色谱行为相似性,得 6 个组段,编号为 Fr. A ~ F。将 Fr. B 用反相硅胶柱层析分离,得 8 个组分:Fr. B-1 ~ B-8。将 Fr. C 用反相硅胶柱层析分离,得 4 个组分:Fr. C-1 ~ C-4。取 Fr. C-2(39.0 mg)进行半制备型 HPLC 纯化(甲醇:水 = 55:45,3 mL/min),得化合物**5**(2.0 mg,  $t_R = 6.9$  min)。取 Fr. C-3(123.6 mg)进行半制备型 HPLC 纯化(甲醇:水 = 60:40,3 mL/min),得化合物**2**(7.7 mg,  $t_R = 33.0$  min)和化合物**3**(3.2 mg,  $t_R = 40.8$  min)。将 Fr. D 用反相硅胶柱层析分

离,得 10 个组分:Fr. D-1 ~ D-10。取 Fr. D-5(113.8 mg)进行半制备型 HPLC 纯化(乙腈:水 = 40:60,3 mL/min),得化合物**4**(14.4 mg,  $t_R = 33.0$  min)。将 Fr. F 用反相硅胶柱层析分离,得 11 个组分:F-1 ~ F-11。取 Fr. F-5(204.9 mg)进行半制备型 HPLC 纯化(乙腈:水 = 15:85,3 mL/min),得化合物**1**(2.1 mg,  $t_R = 23.3$  min)。取 Fr. F-7(137.6 mg)进行半制备型 HPLC 纯化(乙腈:水 = 19:81,3 mL/min),得化合物**7**(9.6 mg,  $t_R = 18.5$  min)。取 Fr. F-8(151.8 mg)进行半制备型 HPLC 纯化(乙腈:水 = 23.5:76.5,3 mL/min),得化合物**6**(7.5 mg,  $t_R = 18.7$  min)。

### 3 结构鉴定

化合物**1** 黄色粉末状物质,  $-50^\circ$  ( $c$  0.02, MeOH), HR-ESI-MS 谱给出的准分子离子峰  $m/z$  443.131 1 [ $M + Na$ ]<sup>+</sup> (计算:443.131 8),故确定分子式为 C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>,不饱和度为 10。结构见图 1。

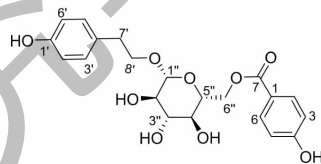


图 1 化合物**1**的结构式

Fig. 1 The chemical structure of compound **1**

表 1 化合物**1**的<sup>1</sup>H和<sup>13</sup>C谱数据

Table 1 <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data of compound **1**  
(600 and 150 MHz in CD<sub>3</sub>OD)

Position	$\delta_H$ (J in Hz)	$\delta_C$
1		122.2
2	7.85, d, 8.8	132.9
3	6.80, d, 8.8	116.1
4		163.7
5	6.80, d, 8.8	116.1
6	7.85, d, 8.8	132.9
7		168.1
1'		156.8
2'	6.66, d, 8.5	116.2
3'	6.98, d, 8.5	130.9
4'		130.6
5'	6.98, d, 8.5	130.9
6'	6.66, d, 8.5	116.2
7'	2.81, m	36.5
8'	3.70, m	72.4

续表 1 (Continued Tab. 1)

Position	$\delta_{\text{H}}$ ( $J$ in Hz)	$\delta_{\text{C}}$
	3.90, m	
1'	4.31, d, 7.8	104.6
2'	3.22, m	75.1
3'	3.39, m	78
4'	3.39, m	72
5'	3.58, m	75.5
6'	4.41, dd, 11.8, 6.3	64.9
	4.59, dd, 11.8, 2.1	

化合物 1 的 $^1\text{H}$  NMR 谱和 $^{13}\text{C}$  NMR 谱 (Table 1) 中显示两个典型的苯环对位双取代系统 [ $\delta_{\text{H}}$  6.66 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-2', 6'), 6.80 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3, 5), 6.98 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-3', 5'), 7.85 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2, 6)], 一个葡萄糖信号 [4.31 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1''), 3.22 (1H, m, H-2''), 3.39 (1H, m, H-3''), 3.39 (1H, m, H-4''), 3.58 (1H, m, H-5''), 4.41 (1H, dd,  $J = 6.3, 11.8$  Hz, H-6a''), 4.59 (1H, dd,  $J = 2.1, 11.8$  Hz, H-6b'')], 一个亚甲基信号 [2.81 (2H, m, H-7')], 一个含氧亚甲基信号 [3.70, 3.91 (2H, m, H-8')] 和一个酯基信号 ( $\delta_{\text{C}}$  168.05)。因此, 基本可以推出该化合物的平面结构。此化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可以从本刊官网免费下载 ([www.tcrw.ac.cn](http://www.tcrw.ac.cn))。

在 HMBC 谱可以看出 (图 2), H-3' ( $\delta_{\text{H}}$  6.98) 与 C-7' ( $\delta_{\text{C}}$  36.54) 存在相关, H-8' ( $\delta_{\text{H}}$  3.70, 3.91) 与 C-7' ( $\delta_{\text{C}}$  36.54) 存在相关, H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.31) 与 C-8' ( $\delta_{\text{C}}$  72.44) 存在相关, H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  7.85) 与 C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  168.05) 存在相关以及 H-6'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.41, 4.60) 与 C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  168.05) 存在相关, 可以推出乙氧基连在 C-4' ( $\delta_{\text{C}}$  130.57) 上, 葡萄糖连的位置在 C-8' 上, 对羟基苯甲酸通过酯化反应连在糖的 6'' 位上。因此, 可以确认化合物 1 的平面结构, 如图 1 所示。

由于葡萄糖的端基氢的耦合常数为 7.8 Hz, 因此可以推出糖苷键为  $\beta$  构型, 通过文献调研, 可以发现化合物 1 与 6''-*O*-galloyl salidroside<sup>[6]</sup> 非常相似, 它们之间差别就是化合物 1 少了 3, 5 位的羟基。通过文献查阅还可以发现化合物 1 应该是红景天苷<sup>[7]</sup> 跟对羟基苯甲酸酯化形成, 故推断出化合物 1 的葡萄糖为  $\beta$ -D 型。因此, 化合物 1 为 6''-*O*-对羟基苯甲酰红景天苷。

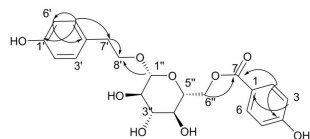


图 2 化合物 1 的关键 HMBC 相关

Fig. 2 The key HMBC correlations of compound 1

化合物 2 黄色油状;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 1.03 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz, 3-Me, 4-Me), 2.32 (2H, m, H-3, H-4), 3.88 (6H, s, 3'-OMe, 3''-OMe), 4.49 (2H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-2, H-5), 5.62 (2H, s, 4'-OH, 4''-OH), 6.91 (2H, s, H-2', H-2''), 6.92 (2H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-5', H-5''), 6.95 (2H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-6', H-6'');  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 13.0 (3-Me, 4-Me), 44.3 (C-3, C-4), 55.9 (3'-OMe, 3''-OMe), 87.3 (C-2, C-5), 109.1 (C-2', C-2''), 114.1 (C-5', C-5''), 119.3 (C-6', C-6''), 134.2 (C-1', C-1''), 145.0 (C-4', C-4''), 146.4 (C-3', C-3'')。以上波谱数据与文献<sup>[8]</sup>报道对照基本一致, 故鉴定化合物为 nectandrin B。

化合物 3 微黄油状;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 0.78 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-9'), 1.02 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-9), 1.79 (1H, m, H-8), 2.03 (3H, s, H-11), 2.42 (1H, m, H-8'), 3.68 (1H, d,  $J = 11.2$  Hz, H-7'), 3.80 (3H, s, 4-OMe), 3.82 (1H, overlap, H-7), 3.82 (3H, s, 3-OMe), 3.85 (3H, s, 3'-OMe), 4.16 (1H, dd,  $J = 10.8, 4.8$  Hz, H-7), 6.73 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 6.81 (1H, dd,  $J = 8.0, 2.0$  Hz, H-6'), 6.86 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-5), 6.90 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 6.91 (1H, dd,  $J = 8.3, 2.0$  Hz, H-6), 6.92 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 13.5 (C-9'), 17.1 (C-9), 21.0 (C-11), 34.4 (C-8), 40.3 (C-8'), 56.5 (C-7'), 56.5 (3'-OMe), 56.5 (3-OMe), 57.3 (4-OMe), 67.2 (C-7), 112.8 (C-2'), 112.8 (C-2), 113.0 (C-5'), 116.3 (C-5), 121.2 (C-6'), 121.2 (C-6), 137.6 (C-1'), 139.7 (C-1), 145.6 (C-4'), 148.6 (C-4), 148.9 (C-3'), 150.2 (C-3), 173.3 (C-10)。以上波谱数据与文献<sup>[9]</sup>报道对照基本一致, 故鉴定化合物为 7-(3,4-dimethoxyphenyl)-7'-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-8,8'-(dimethylbutyl)acetate。

化合物 4 白色粉末;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 0.75 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-9'), 0.98 (3H,

d,  $J = 7.0$  Hz, H-9), 1.89 (1H, m, H-8), 2.02 (3H, s, H-11), 2.36 (1H, m, H-8'), 3.62 (1H, d,  $J = 11.73$  Hz, H-7'), 3.80 (1H, d,  $J = 11.2$  Hz, H-7), 3.82 (3H, brs, H-12), 3.82 (3H, brs, H-13), 4.12 (1H, dd,  $J = 10.9, 5.1$  Hz, H-7), 6.71 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 6.73 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.76 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.6$  Hz, H-6'), 6.78 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.6$  Hz, H-6), 6.85 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2'), 6.87 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 13.5 (C-9'), 17.1 (C-9), 21.0 (C-11), 34.3 (C-8), 41.9 (C-8'), 56.5 (C-12), 56.5 (C-13), 57.2 (C-7'), 67.4 (C-7), 112.6 (C-2'), 112.8 (C-2), 116.1 (C-5'), 116.3 (C-5), 121.1 (C-6'), 121.2 (C-6), 138.0 (C-1'), 138.4 (C-1), 145.3 (C-4'), 145.3 (C-4), 148.8 (C-3'), 148.8 (C-3), 173.8 (C-10)。以上波谱数据与文献<sup>[10]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物为 henricine B。

**化合物 5** 微黄油状;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 2.14 (3H, brs, H-9), 2.15 (3H, brs, H-9'), 3.78 (3H, s, 3'-OMe), 3.87 (1H, m, H-8'), 3.89 (3H, s, 4'-OMe), 3.95 (1H, d,  $J = 14.8$  Hz, H-8), 6.02 (2H, s,  $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 6.78 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5'), 6.91 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5), 6.92 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2'), 7.05 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2), 7.23 (1H, dd,  $J = 8.2, 1.6$  Hz, H-6'), 7.28 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, H-6);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 15.9 (C-9'), 16.0 (C-9), 48.2 (C-8'), 48.4 (C-8), 54.9 (3'-OMe), 55.1 (4'-OMe), 102.1 ( $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 107.2 (C-5'), 107.6 (C-5), 109.9 (C-2'), 110.7 (C-2), 124.8 (C-6), 126.4 (C-6'), 129.7 (C-1), 131.5 (C-1'), 148.1 (C-3'), 148.9 (C-3), 152.2 (C-4'), 153.8 (C-4), 197.8 (C-7'), 198.3 (C-7)。以上波谱数据与文献<sup>[11]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物为 (8*R*, 8'*R*)-3,4-Dimethoxy-3',4'-methylenedioxy-7,7'-dioxo-8,8'-neolignan。

**化合物 6** 红色油状;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 1.90 (2H, m, H-8, H-8'), 2.57 (2H, m, H-7a, H-7a'), 2.64 (2H, m, H-7b, H-7b'), 3.58 (4H, m, H-9, H-9'), 3.73 (6H, s, 3-OMe, 3'-OMe), 6.53 (2H, dd,  $J = 8.0, 1.8$  Hz, H-6, H-6'), 6.58 (2H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2, H-2'), 6.65 (2H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 34.6 (C-7, C-7'), 42.6 (C-8, C-8'), 54.7 (3-OMe, 3'-OMe), 60.7

(C-9, C-9'), 111.6 (C-2, C-2'), 114.3 (C-5, C-5'), 121.3 (C-6, C-6'), 132.4 (C-1, C-1'), 144.0 (C-4, C-4'), 147.4 (C-3, C-3')。以上波谱数据与文献<sup>[12]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物为 secoisolariciresinol。

**化合物 7** 褐色油状;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 2.80 (2H, m, H- $\beta'$ ), 3.23 (1H, t,  $J = 8.2$  Hz, H-2'), 3.39 (2H, m, H-3', H-4'), 3.54 (1H, m, H-5'), 3.72 (1H, dd,  $J = 16.9, 8.1$  Hz, H- $\alpha$ ), 3.97 (1H, dd,  $J = 16.7, 8.0$  Hz, H- $\alpha$ ), 4.34 (2H, m, H-1', H-6'), 4.51 (1H, dd,  $J = 11.8, 1.8$  Hz, H-6'), 6.30 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H- $\alpha''$ ), 6.55 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.8$  Hz, H-6), 6.65 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 6.69 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2), 6.78 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5''), 6.90 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.8$  Hz, H-6''), 7.05 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2''), 7.58 (1H, dd,  $J = 15.8, 2.0$  Hz, H- $\beta''$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 35.3 (C- $\beta$ ), 63.2 (C-6'), 70.3 (C-4'), 71.0 (C- $\alpha$ ), 73.6 (C-2'), 74.0 (C-5'), 76.5 (C-3'), 103.1 (C-1'), 113.4 (C- $\alpha''$ ), 113.6 (C-2''), 114.9 (C-5), 115.1 (C-5''), 115.7 (C-2), 119.8 (C-6), 121.8 (C-6''), 126.2 (C-1''), 129.9 (C-1), 143.2 (C-4), 144.7 (C-3), 145.4 (C- $\beta''$ ), 145.9 (C-3''), 148.2 (C-4''), 167.8 (C=O)。以上波谱数据与文献<sup>[13]</sup>报道对照基本一致,故鉴定化合物为 calceolarioside B。

#### 4 化合物抗炎活性研究

细胞培养参照文献<sup>[14]</sup>的操作步骤,在  $\text{CO}_2$  浓度为 5%, 温度为 37 °C 的恒温培养箱中培养含有 RAW 264.7 巨噬细胞的培养基,隔天传代,备用。衡量 NO 水平的指标为 Griess 法测定样品中的  $\text{NO}^2^-/\text{NO}^3^-$ 。取 RAW 264.7 单细胞悬液,接种于 96 孔培养板(200  $\mu\text{L}$ /孔)中,细胞数为  $1 \times 10^4$ /孔。在 37 °C 条件下培养 24 h 后,将 100  $\mu\text{L}$  阳性药(吡啶美辛)或受试化合物溶液加入到每个孔中,并设置 5 个复孔。在 30 min 后每孔加入 100  $\mu\text{L}$  的 LPS(终浓度 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。然后置于 37 °C 培养 24 h,吸取培养液上清 50  $\mu\text{L}$  加入到酶标板中,加入 50  $\mu\text{L}$  Griess I 试剂,再加入 50  $\mu\text{L}$  Griess II 试剂,540 nm 处测定吸光值。抑制率 I 的计算公式为:

$$I = \left(1 - \frac{[\text{NO}^{2-}]_{\text{LPS+样品}} - [\text{NO}^{2-}]_{\text{空白}}}{[\text{NO}^{2-}]_{\text{LPS}} - [\text{NO}^{2-}]_{\text{空白}}}\right) \times 100\%$$

化合物对 LPS 诱导 RAW 264.7 巨噬细胞释放 NO 的抑制率见表 2,可以看出吡啶美辛的抑制率为

49.43%, 化合物 **1**、**6**、**7** 的抑制率均比吡喹美辛的抑制率高, 由此说明化合物 **1**、**6**、**7** 具有较好的 NO 释放的抑制作用。这为今后探寻华中五味子抗炎活性成分提供了一些科学依据。

表 2 化合物对 LPS 诱导 RAW 264.7 巨噬细胞释放 NO 的抑制率

Table 2 Inhibitory effect of compounds on NO release from RAW 264.7 macrophages induced by LPS

化合物 Compound	浓度 Concentration ( $\mu\text{mol/L}$ )	抑制率 Inhibitory rate (%)
<b>1</b>	50	50.28
<b>2</b>	50	29.41
<b>3</b>	50	41.94
<b>4</b>	50	36.24
<b>5</b>	50	27.32
<b>6</b>	50	51.99
<b>7</b>	50	49.91
吡喹美辛	50	49.43

## 5 讨论

目前, 对于华中五味子的研究主要为果实, 关于其藤茎的化学成分研究报道较少<sup>[15]</sup>。本实验从华中五味子藤茎的 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯部位分离、鉴定了 7 个化合物, 化合物 **1** 为糖苷类化合物, 化合物 **2**~**7** 均为木脂素类化合物, 且化合物 **1** 为新化合物。此外对这些化合物进行了抗炎活性研究, 研究表明化合物 **1**、**6**、**7** 在 50  $\mu\text{mol/L}$  的浓度下, 对小鼠 RAW264.7 巨噬细胞的 NO 生成抑制率均比吡喹美辛的抑制率高, 说明化合物 **1**、**6**、**7** 具有较好的 NO 释放的抑制作用, 这对木脂素类和糖苷类化合物的生物活性研究具有一定的价值和意义。炎症是人类疾病中最常见的病理过程, 大多数疾病均与此有关<sup>[16]</sup>。根据华中五味子的应用和价值, 其抗炎活性及其作用机制值得进一步研究。本研究不仅丰富了华中五味子的化学成分及药理活性研究, 还为其木脂素成分、糖苷类成分的抗炎活性提供了实验依据, 并对华中五味子进一步的开发与利用提供了理论基础。

## 参考文献

1 Flora of China Editorial Committee of Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1996, 30:258.

2 Zhang RB. Studies on chemical constituents of *Schisandra chinensis* [D]. Kunming: Kunming University of Technology (昆明理工大学), 2007.

3 Ren R. Studies on the chemical constituents and anti-inflammatory activity of *Schisandra chinensis* [D]. Kunming: Kunming University of Technology (昆明理工大学), 2009.

4 Gao JQ, Yu ZP, Jing S, et al. Protective effect of anwulignan against D-galactose-induced hepatic injury through activating p38 MAPK-Nrf2-HO-1 pathway in mice [J]. Clin Interv Aging, 2018, 13:1859-1869.

5 Liu Y, Wang YM, Wu WM, et al. Triterpenoids and lignans from the fruit of *Schisandra sphenanthera* [J]. Fitoterapia, 2017, 116:10-16.

6 Kim JI, Kim HH, Kim S, et al. Antioxidative compounds from *Quercus salicina* Blume stem [J]. Arch Pharmacol Res, 2008, 31:274-278.

7 Zhou LY, Zhang XH, Chen CX. Chemical study on *Rhodiola* from Lijiang [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2004, 16:410-414.

8 Hattori M, Hada S, Kawata Y, et al. New 2,5-Bis-aryl-3,4-dimethyltetrahydrofuran lignans from the aril of *Myristica fragrans* [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35:3315-3322.

9 Song QY, Zhang CJ, Li Y, et al. Lignans from the fruit of *Schisandra sphenanthera* and their inhibition of HSV-2 and adenovirus [J]. Phytochem Lett, 2013, 6:174-178.

10 Liu HT, Xu LJ, Peng Y, et al. Two new lignans from *Schisandra henryi* [J]. Chem Pharm Bull, 2009, 57:405-407.

11 Lopes L M X, Yoshida M, Gottlieb O R. Further lignoids from *Virola sebifera* [J]. Phytochemistry, 1984, 23:2647-2652.

12 Li L, Seeram NP. Maple syrup phytochemicals include lignans, coumarins, a stilbene, and other previously unreported antioxidant phenolic compounds [J]. J Agr Food Chem, 2010, 58:11673-11679.

13 Damtoft S, Jensen SR. Three phenylethanoid glucosides of unusual structure from *Chirita sinensis* (Gesneriaceae) [J]. Phytochemistry, 1994, 37:441-443.

14 Hu YLGQ, Zhang LL, Lin LF, et al. Study on anti-inflammatory activity of the main component of girald daphne bark *in vitro* [J]. Int J Tradit Chin Med (国际中医中药杂志), 2017, 39:343-346.

15 Huang ZH, Qin LP. Chemical constituents from canes of *Schisandra sphenanthera* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47:3374-3378.

16 Yang XB, Yan S, Hu JM, et al. Chemical constituents from *Dendrobium heterocarpum* Lindl. [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2019, 31:1745-1752.