

月见草中一个新的莽草酸衍生物

刘娟娟^{1,2},张靖柯^{1,2},曾梦楠^{1,2},
李孟^{1,2},朱登辉^{1,2},魏俊俊^{1,2},郑晓珂^{1,2},冯卫生^{1,2*}¹河南中医药大学药学院;²河南省中药开发工程技术研究中心,郑州 450046

摘要:为了研究月见草 *Oenothera biennis* L. 的化学成分,采用硅胶、Sephadex LH-20 凝胶、MCI gel CHP-20 等柱色谱并结合半制备高效液相等分离技术,利用现代波谱学手段进行化合物结构鉴定。从月见草 50% 丙酮提取物中分离得到 10 个化合物,分别鉴定为 dimethyl 3-lactyl shikimate(1)、methyl shikimate(2)、3,3',4-*O*-三甲基鞣花酸(3)、3,3'-二甲氧基-鞣花酸(4)、3,4,3'-三甲氧基鞣花酸(5)、alternariol 9-methyl ether(6)、2,3-二羟基-1-(4-羟基-3,5-二甲氧基苯基)-1-丙酮(7)、scirpyrone H(8)、dimethoxydimethylphthalide(9)、clearanol C(10)。其中化合物 1 为新化合物,化合物 2~10 均为首次从该植物中分离得到。化合物 2 和 3 可显著提高 TGF- β 1 诱导 BEAS-2B 细胞的活力,推测其具有潜在的肺保护作用。

关键词:月见草;莽草酸衍生物;dimethyl 3-lactyl shikimate;MTT

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)12-2034-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.12.006

A new shikimate derivative from *Oenothera biennis* L.LIU Juan-juan^{1,2},ZHANG Jing-ke^{1,2},ZENG Meng-nan^{1,2},
LI Meng^{1,2},ZHU Deng-hui^{1,2},WEI Jun-jun^{1,2},ZHENG Xiao-ke^{1,2},FENG Wei-sheng^{1,2*}¹College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine;²The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China

Abstract: To study the chemical constituents of *Oenothera biennis* L. The chemical constituents from 50% acetone extract of the *O. biennis* were isolated by repeated chromatograph with silica gel, Sephadex LH-20, MCI gel CHP-20 and semi-preparative RP-HPLC. The structure of the separated chemical components was identified by modern spectroscopy identification. Ten compounds were isolated from the ethyl acetate fraction of 50% acetone extract of *O. biennis*, and identified as dimethyl 3-lactyl shikimate (1), methyl shikimate (2), 3,3',4-*O*-trimethyllellagic acid (3), 3,3'-dimethyllellagic acid (4), 3,4,3'-trimethoxy flavellagic acid (5), alternariol 9-methyl ether (6), 2,3-dihydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone (7), scirpyrone H (8), dimethoxydimethylphthalide (9), clearanol C (10). Compound 1 was a new shikimate derivative and compounds 2-10 were newly isolated from the *O. biennis*. Compounds 2 and 3 could significantly increase the viability of BEAS-2B cells induced by TGF- β 1, showing potent lung protection.

Key words: *Oenothera biennis* L.; shikimate derivative; dimethyl 3-lactyl shikimate; MTT

肺纤维化 (pulmonary fibrosis, PF) 是一类破坏性、不可逆损伤的弥漫性肺间质疾病^[1]。其中严重呼吸综合征冠状病毒和新型冠状病毒 (COVID-19) 感染以及多种炎症性肺部疾病,均可引起肺纤维化^[2]。治疗上西医多采用糖皮质激素、免疫抑制

剂、细胞因子抑制剂等进行治疗,但不良反应比较多^[3]。随着中医药事业的不断发展,以及中医药在抗击新冠疫情方面发挥的核心作用^[4]。越来越多的实验研究表明中药及其提取物对肺纤维化有良好的治疗作用^[5]。查阅地方书籍发现月见草能够治疗肺部相关的疾病。比如《泉州本草》记载用月见草可以治疗肺病、瘰疬等。

月见草 *Oenothera biennis* L. 为柳叶菜科 (*Onagraceae*) 月见草属 (*Oenothera* L.) 多年生草本植

收稿日期:2022-05-10

接受日期:2022-08-16

基金项目:河南省重大科技专项 (171100310500); 国家重点研发计划-中医药现代化研究 (2019YFC1708802)

* 通信作者 Tel:86-371-60190296; E-mail:fwsh@hactcm.edu.cn

物^[6],因在傍晚7~9时开花,故称为月见草。它是一种集油用、观赏、药用于一身的多功能植物^[7],为民间常用的中草药,全株皆可入药,该植物主要分布在我国的东北南部及东部山区等地^[8]。月见草种子油中富含 γ -亚麻油酸等多种不饱和脂肪酸是人体不可缺少的必需脂肪酸,有很强的生物活性^[9-12]。查阅文献发现,目前有关月见草化学成分研究的报道比较少,且缺乏对月见草化学成分的系统研究。为了明确月见草的化学成分,为月见草的后续开发利用奠定基础,本文对月见草全草化学成分进行分离鉴定研究。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

赛谱锐思 LC-52 型高压制备液相色谱仪(赛谱锐思北京科技有限公司,SP-5030 型半制备型高压输液泵,UV200 型紫外检测器,Easychrom 型色谱工作站);OSB-21000 型旋转蒸发器(上海爱朗仪器有限公司);Bruker AVANCE III 500 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司);Bruker maxis HD 型飞行时间质谱(德国 Bruker 公司);Thermo Nicolet IS10 红外光谱仪(Thermo Scientific, USA);Thermo EVO300 紫外分光光度计(Thermo Scientific, USA);Rudolph AP-IV 型旋光仪(Rudolph, USA);Multiskan MK3 酶标仪(Thermo Fisher, USA)。

硅胶 H(200~300 目)(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(Pharmacia Biotech);MCI GEL CHP-20(Mitsubishi Chemical Corporation);色谱柱 COSMO-SIL C18-MS-II,250 mm \times 20 mm,5 μ m);薄层色谱硅胶 G 和 GF254(烟台江友硅胶开发有限公司);色谱甲醇、分析甲醇、分析二氯甲烷、分析乙酸乙酯、分析石油醚、分析正丁醇(天津市富宇精细化工有限公司),色谱乙腈(美国天地有限公司)。

月见草样品于2019年8月采自于河南省伏牛山区,经河南中医药大学董诚明教授鉴定为柳叶菜科月见草属植物月见草(*Oenothera biennis* L.)的干燥全草;留样标本(YJC-201908)存放于河南中医药大学药学院河南省中药开发工程技术研究中心。

1.2 实验方法

1.2.1 提取与分离

取干燥月见草全草(40 kg),用50%含水丙酮组织破碎提取2次,过滤,合并滤液,减压浓缩,得到总浸膏(3.3 kg)。总浸膏加等量水分散,依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯以及水饱和正丁醇进行萃

取,各部位经减压浓缩,回收溶剂,得到石油醚部位(5.0 g)、二氯甲烷部位(49.6 g)、乙酸乙酯部位(161.0 g)及正丁醇部位(457.0 g)。二氯甲烷部位进行硅胶柱色谱分离,以石油醚-乙酸乙酯(10:0 \rightarrow 0:1)以及乙酸乙酯-甲醇(5:1 \rightarrow 0:1)洗脱,洗脱组分经 TLC 检测,合并相同部分,得到10个组分,即 Fr. 1~Fr. 10。其中 Fr. 8(2.47 g)洗脱组分进行硅胶柱色谱分离以石油醚-丙酮(20:1 \rightarrow 0:1)梯度洗脱,经 TLC 检识,合并相同组分,得到9个组分,即 Fr. 8-1~Fr. 8-9。其中 Fr. 8-8(0.95 g)进行硅胶柱色谱分离以石油醚-丙酮(15:1 \rightarrow 0:1)梯度洗脱,经 TLC 检识,合并相同组分,得到7个组分,即 Fr. 8-8-1~Fr. 8-8-7。其中 Fr. 8-8-6(0.53 g)加甲醇溶解,进行硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷:甲醇(50:1 \rightarrow 10:1)梯度洗脱,得到7个洗脱组分 Fr. 8-8-6-1~Fr. 8-8-6-7。其中 Fr. 8-8-6-3(0.14 g)进行制备薄层分离纯化并结合使用半制备高效液相(乙腈-水洗脱体系),最终得到化合物 9(22.96 mg)。Fr. 8-8-6-4(0.27 g)加甲醇溶解,进行硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷:甲醇(50:1 \rightarrow 10:1)梯度洗脱,得到4个洗脱组分 Fr. 8-8-6-4-1~Fr. 8-8-6-4-4。其中 Fr. 8-8-6-4-2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(70% 甲醇)分离并结合半制备高效液相(甲醇-水洗脱体系),最终得到化合物 3(3.68 mg)、4(1.98 mg)、5(2.55 mg)。Fr. 8-8-6-6(0.09 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(70% 甲醇)分离并结合半制备高效液相(甲醇-水洗脱体系),最终得到化合物 6(1.32 mg)。

乙酸乙酯部位进行硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(100:1 \rightarrow 0:1)梯度洗脱,洗脱组分经 TLC 检测,合并相同部分,得到5个组分,即 Fr. 11~Fr. 15。其中 Fr. 13(10.3 g)进行 MCI gel CHP-20 柱色谱分离,以甲醇-水(0:100 \rightarrow 100:0)梯度洗脱,洗脱组分经 TLC 检测,合并相同部分,得到7个组分,即 Fr. 13-1~Fr. 13-7。其中 Fr. 13-5(1.49 g)加甲醇溶解,进行硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷:甲醇(50:1 \rightarrow 10:1)梯度洗脱,得到4个洗脱组分,即 Fr. 13-5-1~Fr. 13-5-4。Fr. 13-5-2(0.21 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(70% 甲醇)分离并结合半制备高效液相(乙腈-水洗脱体系),最终得到化合物 8(2.70 mg)、10(4.33 mg)。Fr. 13-5-3(0.12 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(70% 甲醇)分离并结合半制备高效液相(乙腈-水洗脱体系),最终得到化合物 7(1.62 mg)。其中 Fr. 14(28.9 g)进行 MCI

gel CHP-20 柱色谱分离,以甲醇:水(0:100 → 100:0)梯度洗脱,洗脱组分经 TLC 检测,合并相同部分,得到 9 个组分,即 Fr. 14-1 ~ Fr. 14-9。其中 Fr. 14-2 (3.59 g)加甲醇溶解,进行硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(30:1 → 0:1)梯度洗脱,得到 6 个洗脱组分 Fr. 14-2-1 ~ Fr. 14-2-6。其中 Fr. 14-2-4 (1.39 g)反复经过硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离,并结合使用半制备高效液相(乙腈-水洗脱体系),最终得到化合物 **1**(6.28 mg)、**2**(8.76 mg)。

1.2.2 MTT 法测定细胞活力

前期课题组成员对月见草总提取物以及各部位进行抗肺纤维化活性实验研究。为探究其发挥肺纤维化的活性成分,本研究采用 MTT 法测定化合物 **1** ~ **10** 对 TGF- β 1 诱导 BEAS-2B 细胞损伤的影响,以初步探究其抗肺纤维化的活性成分。

将 BEAS-2B 细胞置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养至对数生长期,按照细胞密度每毫升 2.5 × 10⁴ 个细胞,每孔 200 μ L 接种于 96 孔板中,24 h 后分为正常组、模型组(TGF- β 1, 1 ng/mL)及各给药组(10 μ mol/L + TGF- β 1, 1 ng/mL),继续培养 24 h 后,每孔加入 MTT 溶液(5 mg/mL)20 μ L,再继续培养 4 h,终止培养,小心吸取摒弃孔内培养上清液,每孔加入 150 μ L 的 DMSO,在 490 nm 下测定每个孔吸光度(A),计算细胞活力(细胞活力 = 实验组的 OD 值/正常组的 OD 值)。

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 **1** 无色无定形固体;通过 HR-ESI-MS: m/z 297.094 4 [M + Na]⁺ (calcd for 297.095 0) 确定分子式为 C₁₂H₁₈O₇, 不饱和度为 2。[α]_D²⁰ -46.1 (c 0.13, CH₃OH), UV λ_{\max} MeOH (nm): 211 (1.44), IR 光谱中显示该化合物中存在羟基(3 397 cm⁻¹)、羰基(1 718 cm⁻¹)的官能团。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) 谱中,在低场区 δ_{H} 6.87 (1H, m, H-2) 为双键上的一个氢信号, δ_{H} 4.46 (1H, q, $J = 6.9, 13.8$ Hz, H-8), 4.11 (1H, m, H-3), 4.00 (1H, m, H-5), 3.70 (1H, d,

$J = 6.5$ Hz, H-4) 为四个连氧次甲基的氢信号, δ_{H} 2.53 (1H, m, H-6a), 2.44 (1H, m, H-6b) 为一个亚甲基的氢信号, δ_{H} 3.75 (3H, s, 7-OCH₃), 3.75 (3H, s, 9-OCH₃) 为 2 个甲氧基的氢信号, δ_{H} 1.40 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-10) 为一个甲基的氢信号。¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD)、DEPT135 谱提示该化合物有 12 个碳信号,其中 3 个季碳信号 [δ_{C} 175.8 (C-9)、168.6 (C-7)、130.2 (C-1) 其中 δ_{C} 175.8 (C-9)、168.6 (C-7) 为两个羰基的碳信号], 5 个叔碳信号 [δ_{C} 137.7 (C-2)、78.7 (C-3)、76.6 (C-8)、73.8 (C-4)、69.5 (C-5)], 1 个仲碳信号 [δ_{C} 32.0 (C-6)], 3 个伯碳信号 [δ_{C} 52.5 (7-OCH₃), 52.4 (9-OCH₃), 19.2 (C-10)]。

¹H-¹H COSY 谱(见图 1)中显示 H-3 (δ_{H} 4.11) 和 H-2 (δ_{H} 6.87)、H-4 (δ_{H} 3.70) 与 H-5 (δ_{H} 4.00) 和 H-4 (δ_{H} 3.70)、H-6 (δ_{H} 2.44, 2.53) 具有相关,推测该结构中有一个 -C = CH-CH-CH-CH-CH₂- 的结构;在 HMBC 谱(见图 1)中 H-6 (δ_{H} 2.44, 2.53) 与 C-5 (δ_{C} 69.5)、C-4 (δ_{C} 73.8)、C-1 (δ_{C} 130.2)、C-2 (δ_{C} 137.7)、C-7 (δ_{C} 168.5) 具有远程相关,可以确定该结构中有一个莽草酸甲酯结构。¹H-¹H COSY 谱中显示 H-8 (δ_{H} 4.46) 和 H-10 (δ_{H} 1.40) 具有相关;在 HMBC 谱中 δ_{H} 4.46 (H-8) 与 δ_{C} 175.8 (C-9)、 δ_{C} 78.7 (C-3)、 δ_{C} 19.2 (C-10) 具有远程相关,推测该结构中有一个 -O-CHCH₃COOCH₃ 结构,且连在莽草酸甲酯的 3 位碳原子上。根据以上数据,结合文献^[13],由此可以确定该化合物的平面结构。在 NOESY 谱中,H-4 与 H-5 具有相关信号,说明其位于同侧,为 β -构型;H-3 与 H-4 无相关信号,说明其位于异侧,为 α -构型;H-8 与 H-3 具有相关信号,说明其位于同侧,为 α -构型。经过 ECD 计算(见图 2),确定该化合物的绝对构型为 3*R*,4*R*,5*R*,8*S*。经文献检索,确定该化合物为新化合物,命名为 dimethyl 3-lactyl shikimate(结构见图 3)。该化合物的碳氢数据归属见表 1。化合物 **1** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载(www.trew.ac.cn)。

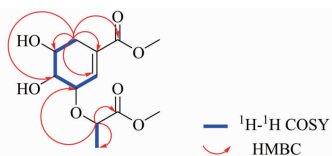


图 1 化合物 **1** 的¹H-¹H COSY、HMBC 相关

Fig. 1 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlations of compound **1**

表 1 化合物 1 的 ^1H NMR (500 MHz) 和 ^{13}C NMR (125 MHz) 数据 (CD_3OD)Table 1 ^1H NMR (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) data for compound 1 (in CD_3OD)

No.	δ_{H}	δ_{C}	No.	δ_{H}	δ_{C}
1	—	130.2	7	—	168.6
2	6.87 (1H, m)	137.7	8	4.46 (1H, q, $J=6.9, 13.8$ Hz)	76.6
3	4.11 (1H, m)	78.7	9	—	175.8
4	3.70 (1H, d, $J=6.5$ Hz)	73.8	10	1.40 (1H, d, $J=6.9$ Hz)	19.2
5	4.00 (1H, m)	69.5	7-OCH ₃	3.75 (3H, s)	52.5
6	2.53 (1H, m), 2.44 (1H, m)	32	9-OCH ₃	3.75 (3H, s)	52.4

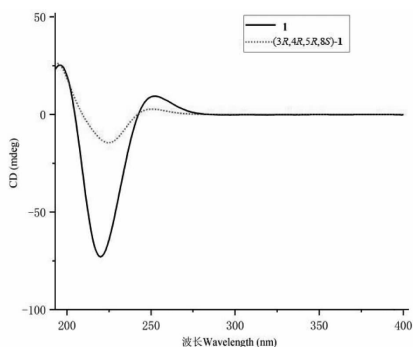


图 2 化合物 1 的实测和计算 ECD 谱图

Fig. 2 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

化合物 2 无色结晶; 分子式为 $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_5$, ESI-MS: m/z 211 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.76 (1H, m, H-2), 4.29 (1H, m, H-3), 4.04 (1H, dt, $J = 4.8, 7.2$ Hz, H-5), 3.74 (3H, s, 7-OCH₃), 3.62 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-4), 2.55 (1H, m, H-6a), 2.46 (1H, m, H-6b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 129.8 (C-1), 139.3 (C-2), 70.3 (C-3), 75.0 (C-4), 69.0 (C-5), 32.0 (C-6), 168.7 (C-7), 52.4 (7-OCH₃). 以上数据与文献^[14]报道基本一致, 故鉴定化合物 2 为 methyl shikimate。

化合物 3 黄色固体; 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_8$, ESI-MS: m/z 367 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.64 (1H, s, H-5), 7.54 (1H, s, H-5'), 4.06 (3H, s, 3-OCH₃), 4.04 (3H, s, 4-OCH₃), 4.00 (3H, s, 3'-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 111.2 (C-1), 140.2 (C-2), 140.9 (C-3), 152.7 (C-4), 111.7 (C-5), 112.0 (C-6), 158.3 (C-7), 112.6 (C-1'), 141.5 (C-2'), 141.0 (C-3'), 153.8 (C-4'), 107.5 (C-5'), 113.4 (C-6'), 158.5 (C-7'), 61.3 (3'-OCH₃), 60.9 (3-OCH₃), 56.7 (4-OCH₃). 以上数据

与文献^[15]报道基本一致, 故鉴定化合物 3 为 3, 3', 4-O-三甲基鞣花酸。

化合物 4 黄色固体; 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_8$, ESI-MS: m/z 353 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.54 (2H, s, H-5, 5'), 4.04 (6H, s, 3, 3'-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 111.7 (C-1, 1'), 141.2 (C-2, 2'), 140.2 (C-3, 3'), 152.2 (C-4, 4'), 111.5 (C-5, 5'), 112.2 (C-6, 6'), 158.5 (C-7, 7'), 61.0 (3, 3'-OCH₃). 以上数据与文献^[16]报道基本一致, 故鉴定化合物 4 为 3, 3'-二甲氧基鞣花酸。

化合物 5 黄色固体; 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_9$, ESI-MS: m/z 383 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.54 (1H, s, H-5'), 4.15 (3H, s, 3-OCH₃), 4.04 (3H, s, 4-OCH₃), 3.89 (3H, s, 3'-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 111.7 (C-1), 140.1 (C-2), 151.7 (C-3), 133.4 (C-4), 147.0 (C-5), 97.5 (C-6), 160.9 (C-7), 113.0 (C-1'), 141.4 (C-2'), 140.6 (C-3'), 153.1 (C-4'), 111.3 (C-5'), 113.4 (C-6'), 158.3 (C-7'), 61.7 (4-OCH₃), 61.2 (3-OCH₃), 61.0 (3'-OCH₃). 以上数据与文献^[17]报道基本一致, 故鉴定化合物 5 为 3, 4, 3'-三甲氧基鞣花酸。

化合物 6 白色晶体; 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$, ESI-MS: m/z 295 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 11.83 (1H, s, 7-OH), 10.38 (1H, s, 3-OH), 7.24 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-10), 6.66 (2H, d, $J = 2.6$ Hz, H-2, 4), 6.63 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 3.92 (3H, s, 9-OCH₃), 2.74 (1H, s, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 138.4 (C-1), 117.6 (C-2), 158.6 (C-3), 101.6 (C-4), 152.6 (C-4a), 166.2 (C-6), 98.5 (C-6a), 164.1 (C-7), 99.2 (C-8), 164.7 (C-9), 103.4 (C-10), 137.8 (C-10a), 108.8 (C-10b), 25.0 (C-11), 55.8 (9-OCH₃). 以上数据与文献^[18]

报道基本一致,故鉴定化合物 **6** 为 Alternariol 9-methyl ether。

化合物 7 淡黄色粉末;分子式为 $C_{11}H_{14}O_6$, ESI-MS: m/z 242 $[M + Na]^+$ 。 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.35 (2H, s, H-2, 6), 5.13 (1H, t, $J = 3.8$ Hz, H-8), 3.80 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.68 (1H, dd, $J = 11.6, 5.1$ Hz, H-9a), 3.58 (1H, dd, $J = 11.6, 5.1$ Hz, H-9b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 125.3 (C-1), 106.3 (C-2, 6), 147.7 (C-3, 5), 141.6 (C-4), 198.3 (C-7), 74.2 (C-8), 64.8 (C-9), 55.5 (3, 5-OCH₃)。以上数据与文献^[19]报道基本一致,故鉴定化合物 **7** 为 2,3-二羟基-1-(4-羟基-3,5-二甲氧基苯基)-1-丙酮。

化合物 8 白色无定形粉末;分子式为 $C_{10}H_{12}O_5$, ESI-MS: m/z 235 $[M + Na]^+$, 1H NMR (500 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 5.95 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-5), 5.42 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3), 3.85 (3H, s, 4-OCH₃), 3.64 (3H, s, H-4'), 2.77 (2H, m, H-1'), 2.68 (2H, m, H-2'); ^{13}C NMR (125 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 164.7 (C-2), 88.1 (C-3), 171.9 (C-4), 99.4 (C-5), 164.0 (C-6), 29.4 (C-1'), 31.1 (C-2'), 172.7 (C-3'), 51.9 (C-4'), 55.6 (4-OCH₃)。以上数据与文献^[20]报道基本一致,故鉴定化合物 **8** 为 scirpyrone H。

化合物 9 白色无定形粉末;分子式为 $C_{12}H_{14}O_4$, ESI-MS: m/z 245 $[M + Na]^+$ 。 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.87 (1H, s, H-6), 5.48 (1H, dd, $J = 6.7, 13.2$ Hz, H-8), 3.96 (3H, s, H-9), 3.94 (3H, s, H-11), 2.11 (3H, s, H-10), 1.58 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-12); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 170.6 (C-1), 110.2 (C-2), 158.6 (C-3), 121.3 (C-4), 166.1 (C-5), 100.0 (C-6), 155.1 (C-7), 78.5 (C-8), 62.5 (C-9), 8.7 (C-10), 56.9 (C-11), 20.8 (C-12)。以上数据与文献^[21]报道基本一致,故鉴定化合物 **9** 为 dimethoxydimethylphthalide。

化合物 10 无定形固体;分子式为 $C_{13}H_{14}O_4$, ESI-MS: m/z 257 $[M + Na]^+$ 。 1H NMR (500 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 6.47 (1H, s, H-4), 4.74 (1H, s, H-10a), 4.72 (1H, s, H-10b), 4.08 (1H, q, $J = 7.1$ Hz, H-8), 3.93 (3H, s, H-13), 2.10 (3H, s, H-12), 1.36 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 165.9 (C-1), 99.2 (C-2), 164.0 (C-3), 98.3 (C-4), 167.6 (C-5), 114.8 (C-6), 143.3 (C-7), 35.3 (C-8), 158.3 (C-9), 96.0 (C-10), 22.5 (C-11), 10.1 (C-12), 56.5 (C-13)。以上数据与文献^[22]报道基本一致,故鉴定化合物 **10** 为 clearanol C。

化合物 **1~10** 的结构见图 3。

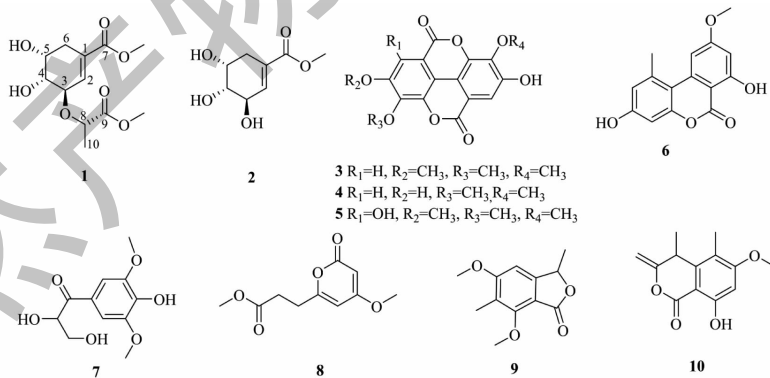


图 3 化合物 **1~10** 的结构

Fig. 3 Chemical structures of compounds **1-10**

2.2 活性测试结果

采用 TGF- β 1 诱导 BEAS-2B 细胞建立肺纤维化体外模型,探究从月见草中分离得到的化合物 **1~10** 对 TGF- β 1 诱导 BEAS-2B 细胞损伤的影响,结果表明,化合物 **2,3** 可显著提高 TGF- β 1 诱导 BEAS-2B 细胞的活力,推测其可能具有潜在的肺保护作用。

3 结论

本文通过多种色谱分离技术对月见草的化学成分进行分离纯化,得到 10 个化合物 (**1~10**),其中化合物 **1** 为新化合物;采用 MTT 法测定了化合物 **1~10** 对 TGF- β 1 诱导 BEAS-2B 细胞损伤的影响,结果显示化合物 **2,3** 可显著提高 TGF- β 1 诱导 BEAS-

2B 细胞的活力。本文进一步丰富了月见草化学成分,前期研究多集中在月见草油的相关药理活性^[23],本研究的活性测试结果也拓展了月见草的药用价值,为月见草的开发利用积累了基础数据。同时课题组前期对月见草的总提物进行了抗肺纤维化活性筛选研究,为明确其药效物质基础,本研究对其化学成分进行分离纯化,为其进一步的开发利用奠定基础。

参考文献

- 1 Liu Q, Jiang JX, Liu YN, et al. Grape seed extract ameliorates bleomycin-induced mouse pulmonary fibrosis[J]. *Toxicol Lett*, 2017, 273:1-9.
- 2 Li X, Chang H, Shi SL, et al. Research progress of pathogenesis and therapy of pulmonary fibrosis in Traditional Chinese Medicine[J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Clin Med(中药药理与临床)*, 2021, 37:240-247.
- 3 Sun QB, Lin BJ, Xu HM, et al. Pathogenesis of pulmonary fibrosis and progress in drug development[J]. *Prog Pharm Sci(药学进展)*, 2018, 42:868-873.
- 4 Liang LX, Pan HD, Huang YF, et al. The scientific foundation of Chinese herbal medicine against COVID-19[J]. *Engineering*, 2020, 6:94-112.
- 5 Ding DL, Shen XB, Yao JH, et al. Research progress on traditional Chinese medicine against treating pulmonary fibrosis[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2021, 52:7006-7024.
- 6 China State Administration of Traditional Chinese Materia Medica Editorial. *Traditional Chinese Materia Medica(中华本草)* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2000:717-717.
- 7 Zhou QX, Liu ZY. Economic value & cultivation technology of the *Oenothera* [J]. *J. Green Sci Technol(绿色科技)*, 2019:119-120.
- 8 Xu YQ, Li HY, Hu BZ. Research progress on plants of the genus *Oenothera* L. [J]. *J North Agric Univ(东北农业大学学报)*, 2006:111-114.
- 9 Wu GL, Wei JS, Jing Z. Research progress of evening primrose[J]. *J Northeast Agric Sci(吉林农业科学)*, 1996:90-92.
- 10 Fu FH, Wu DY, Gu YQ, et al. Inhibitory effect of evening primrose oil and dihomo-gamma-linolenic acid on platelet aggregation and thromboxane biosynthesis [J]. *J Jilin Univ: Med(吉林大学学报)*, 1987, 13:1-6.
- 11 Montserrat-de la Paz S, Fernández-Arche MA, Bermúdez B, et al. The sterols isolated from evening primrose oil inhibit human colon adenocarcinoma cell proliferation and induce cell cycle arrest through upregulation of LXR [J]. *J Funct Foods*, 2015:64-69.
- 12 Khodeer DM, Mehanna ET, Abushouk AI, et al. Protective effects of evening primrose oil against cyclophosphamide-induced biochemical, histopathological, and genotoxic alterations in mice[J]. *Pathogens*, 2020, 9:98.
- 13 Akira I, Masayoshi W, Shigeo M, et al. A new shikimate derivative, methyl 5-lactyl shikimate lactone, from *Penicillium* sp. [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49:167-169.
- 14 Jiang GX, Lin S, Wen LG, et al. Identification of a novel phenolic compound in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) pericarp and bioactivity evaluation [J]. *Food Chem*, 2013, 136:563-568.
- 15 Deng AJ, Qin HL. Studies on chemical constituents of fruits of *Bridelia tomentosa* [J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2008, 33:158-160.
- 16 Zhao C, Chen HG, Gong XJ, et al. Studies on chemical constituents of *Polygonum perfoliatum* L. (II) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2010, 41:365-367.
- 17 Serafin C, Nart V, Malheiros A, et al. Bioactive phenolic compounds from aerial parts of *Plinia glomerata* [J]. *Z Naturforsch C*, 2007, 62:196-200.
- 18 Shang HL, Yang A M, Men Y, et al. Chemical constituents of mycelium from endophytic fungus HJ-3 stain of *Tamarix chinensis* [J]. *Chem Nat Compd*, 2020, 56:720-721.
- 19 Cui ZX, Xu W, Yang XW, et al. Chemical constituents of lipophilic parts in water extract from stem of *Mahonia fortunei* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2018, 49:80-89.
- 20 Tian JF, Yu RJ, Li XX, et al. ¹H and ¹³C NMR spectral assignments of 2-pyrone derivatives from an endophytic fungus of Sarcosomataceae [J]. *Magn Reson Chem*, 2015, 53:866-871.
- 21 Silvia B, Livia B, Giangiacomo B, et al. Production of lovastatin examined by an integrated approach based on chemometrics and DOSY-NMR [J]. *Biotech Bioeng*, 2002, 80:589-593.
- 22 Alexandra LG, Katie MB, Jarrod BK, et al. Secondary metabolites produced by fungi derived from a microbial mat encountered in an iron-rich natural spring [J]. *Tetrahedron Lett*, 2012, 53:4202-4205.
- 23 Yang SY, Long XY, Liu CS, et al. Properties of six natural vegetable oils [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2017, 29:329-336.