

肉豆蔻化学成分及抗炎活性研究

肖雯雯, 万仁山, 张红林, 曾天艳, 白梦微, 李大山, 邵立东*

(云南中医药大学, 云南 昆明 650500)

摘要: 目的 研究肉豆蔻(*Myristica fragrans* Houtt.)石油醚与乙酸乙酯部位的化学成分及其抗炎活性。方法 综合运用正、反相硅胶,制备薄层, Sephadex LH-20 凝胶,半制备液相色谱等方法进行分离纯化,并结合 ¹H 和 ¹³C NMR 分析鉴定化合物的结构。采用 Griess 法测定化合物对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞产生 NO 的抑制活性。结果 从肉豆蔻石油醚和乙酸乙酯部位分离得到 15 个化合物,分别鉴定为 2-(4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯氧基)-1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烷(1)、肉豆蔻异木脂素(2)、4-(2-(4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯氧基)-1-羟丙基)-2,6-二甲氧基苯酚(3)、(E)-4-(1-羟基-2-(2-甲氧基-4-(丙烯基)苯氧基)丙基)-2-甲氧基苯酚(4)、(-)-miliusfragrin(5)、去氢二异丁香酚(6)、反式-2,3-二氢-7-甲氧基-2-(3,4-二甲氧基苯基)-3-甲基-5-(1-(E)-丙烯基)苯并呋喃(7)、(-)-eusiderin A(8)、acetyl oleiferin C(9)、补骨脂酚(10)、3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烷-1,2-二醇(11)、1-(3,4-二甲氧基苯基)丙烷-2-酮(12)、brousochalcone B(13)、bavachinin(14)、malabaricone C(15)。体外抗炎活性研究结果表明,化合物 13 和 15 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 释放有较强抑制活性,其 IC₅₀ 分别为 8.57 ± 0.11、12.01 ± 1.27 μmol·L⁻¹。化合物 1 和 7 显示一定的抑制活性,其 IC₅₀ 分别为 34.48 ± 3.05、42.76 ± 1.53 μmol·L⁻¹。结论 化合物 5、8~14 为首次从该属植物中分离得到,体外抗炎活性研究结果表明,化合物 13 和 15 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 释放有较强抑制活性,化合物 1 和 7 显示一定的抑制活性,化合物 2~6、8~12、14 无活性。

关键词: 肉豆蔻;化学成分;二芳基烷烃;抗炎活性

中图分类号: R284.1; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2023)05-0066-08

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2023.05.013

Study on the Chemical Constituents and Anti-Inflammatory Activities of *Myristica fragrans*

XIAO Wenwen, WAN Renshan, ZHANG Honglin, ZENG Tianyan, BAI Mengwei, LI Dashan, SHAO Lidong
(Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the chemical constituents and anti-inflammatory activities of petroleum ether and ethyl acetate extracts of *Myristica fragrans* Houtt. **Methods** The compounds were separated and purified by using forward and reverse phase silica gel chromatography, preparative thin layer chromatography, sephadex LH-20 and semi-preparative liquid chromatography. The structures of the compounds were identified by comparing the ¹H and ¹³C NMR data with those reported in the literatures. The inhibitory activities of the compounds against LPS-induced NO production in RAW264.7 cells were determined by the Griess assay. **Results** Fifteen compounds were isolated from the petroleum ether and ethyl acetate extracts of *Myristica fragrans*. and identified as 2-(4-allyl-2, 6-dimethoxyphenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) propane (1), iso-lignan (2), 4-(2-(4-allyl-2, 6-dimethoxyphenoxy)-1-hydroxypropyl)-2, 6-dimethoxyphenol (3), (E)-4-(1-hydroxy-2-(2-methoxy-4-(propenyl) phenoxy) propyl)-2-methoxyphenol (4), (-)-miliusfragrin (5), dehydro-diisoeugenol (6), trans-2, 3-dihydro-7-methoxy-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-methyl-5-(1-(E)-propenyl) benzofuran (7),

基金项目: 云南省科技人才和平台计划(202005AG070157,202105AG070012);云南省科技厅科技计划项目-中医联合专项(202001AZ070001-090,202101AZ070001-202);云南省教育厅科技创新团队项目(2022)

作者简介: 肖雯雯(1997-),女,在读硕士研究生,E-mail: 1223039620@qq.com

* **通信作者:** 邵立东(1984-),男,研究员,研究方向:天然药物化学、中药化学,E-mail: shaolidong@ynutcm.edu.cn

(-)-eusiderin A (**8**), acetyl oleiferin C (**9**), psoralen (**10**), 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1, 2-diol (**11**), 1-(3, 4-dimethoxyphenyl)propan-2-one (**12**), broussoualchone B (**13**), bavachinin (**14**), malabaricone C (**15**). The *in vitro* anti-inflammatory activity assay showed that compounds **13** and **15** strongly inhibited LPS-induced NO release in RAW 264.7 cells with IC_{50} values of 8.57 ± 0.11 and $12.01 \pm 1.27 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. Compounds **1** and **7** showed moderate inhibitory activities with IC_{50} of 34.48 ± 3.05 and $42.76 \pm 1.53 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. **Conclusion** Compounds **5** and **8~14** were isolated from *Myristica fragrans* for the first time. The *in vitro* anti-inflammatory activity assay showed that compounds **13** and **15** strongly inhibited LPS-induced NO release in RAW 264.7 cells, compounds **1** and **7** showed moderate inhibitory activities, compounds **2~6**, **8~12**, and **14** have no activity.

KEY WORDS: *Myristica fragrans*; chemical compositions; diaryl alkanes; anti-inflammatory activity

肉豆蔻为肉豆蔻科 (*Myristicaceae*) 肉豆蔻属 (*Myristica*) 植物肉豆蔻 (*Myristica fragrans* Houtt.) 的干燥种仁, 又名豆蔻、玉果、肉果等, 为肉豆蔻科乔木植物, 主要分布于巴西、马来西亚、印度、印度尼西亚及西印度群岛等热带地区, 我国台湾、广西、海南、广东、云南等地亦有引种栽培^[1]。肉豆蔻为传统中药材, 历版《中国药典》均有记载, 其性温, 味辛, 归脾、胃、大肠经, 具有温中行气、涩肠止泻等功效, 用于治疗脾胃虚寒, 久泻不止, 脘腹胀痛, 食少呕吐等症^[2]。化学成分研究表明, 肉豆蔻主要含有挥发油、苯丙素类、木脂素类、二芳基烷烃类、黄酮类等多种化学成分^[3-10]。现代药理活性研究表明, 肉豆蔻具有抗炎镇痛^[11-13]、抗氧化^[4, 13]、抗菌^[14]、抗肿瘤^[8]、降血糖^[6, 15]等多方面药理活性。为深入开展对肉豆蔻化学成分的分离鉴定、药理活性筛选研究, 以期对肉豆蔻的进一步研究和开发利用提供科学依据。本实验对肉豆蔻的石油醚与乙酸乙酯部位进行化学成分研究, 从中分离得到 15 个化

物, 分别鉴定为化合物 **1**: 2-(4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯氧基)-1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烷[2-(4-allyl-2,6-dimethoxyphenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane]、化合物 **2**: 肉豆蔻异木脂素(iso-lignan)、化合物 **3**: 4-(2-(4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯氧基)-1-羟丙基)-2,6-二甲氧基苯酚[4-(2-(4-allyl-2,6-dimethoxyphenoxy)-1-hydroxypropyl)-2,6-dimethoxyphenol]、化合物 **4**: (*E*)-4-(1-羟基-2-(2-甲氧基-4-(丙烯基)苯氧基)丙基)-2-甲氧基苯酚[(*E*)-4-(1-hydroxy-2-(2-methoxy-4-(propenyl)phenoxy)propyl)-2-methoxyphenol]、化合物 **5**: (-)-miliusfragrin、化合物 **6**: 去氢二异丁香酚(dehydrodiisoeugenol)、化合物 **7**: 反式-2,3-二氢-7-甲氧基-2-(3,4-二甲氧基苯基)-3-甲基-5-(1-(*E*)-丙烯基)苯并呋喃[*trans*-2,3-dihydro-7-methoxy-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-3-methyl-5-(1-(*E*)-propenyl)benzofuran]、化合物 **8**: (-)-eusiderin A、化合物 **9**:

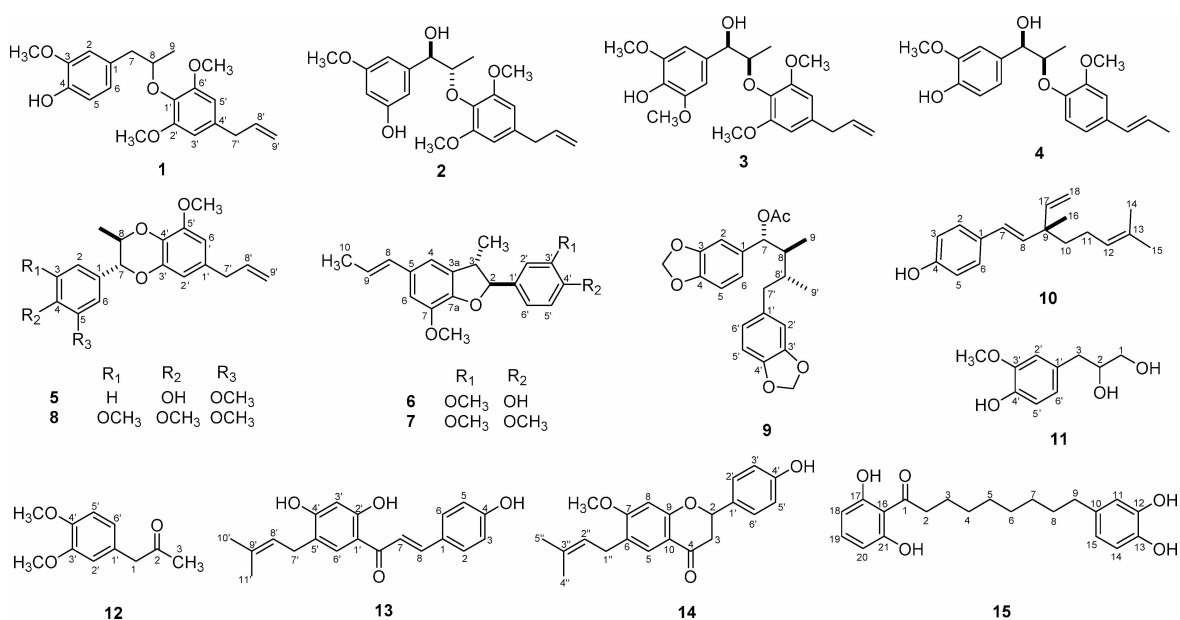


图1 化合物 1~15 的结构

acetyl oleiferin C、化合物 **10**:补骨脂酚(psoralen)、化合物 **11**:3-(4-羟基-3-甲氧苯基)丙烷-1,2-二醇[3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,2-diol]、化合物 **12**:1-(3,4-二甲氧基苯基)丙烷-2-酮[1-(3,4-dimethoxyphenyl)propan-2-one]、化合物 **13**:brousochalcone B、化合物 **14**:bavachinin、化合物 **15**:malabaricone C。化合物 **5,8~14** 为首次从该属植物中分离得到。通过 LPS 诱导 RAW 264.7 巨噬细胞 NO 释放抗炎模型,对所得化合物进行体外抗炎活性研究,结果表明,化合物 **13** 和 **15** 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 释放有较强抑制活性,其 IC_{50} 分别为 8.57 ± 0.11 和 $(12.01 \pm 1.27) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。化合物 **1** 和 **7** 显示一定抑制活性,其 IC_{50} 分别为 34.48 ± 3.05 和 $(42.76 \pm 1.53) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料 Bruker AVANCE-III (500、600 MHz)型核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);Agilent 6540 Q-TO 型质谱仪(美国 Agilent 公司);RPC₁₈ 半制备色谱柱(10 mm × 250 mm, 5 μm, 美国 Agilent 公司);色谱硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工厂);GF254 薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂);LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, 美国 Pharmacia 公司);反相中压和常压材料(ODS, 德国 Merck 公司);薄层色谱显色剂(10% 硫酸乙醇溶液);石油醚、二氯甲烷、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、甲醇等试剂为重蒸的工业或化学纯溶剂;色谱甲醇(上海星可高纯溶剂有限公司)。

药材样品采购于昆明市螺蛳湾药材市场,经云南中医药大学董发武副教授鉴定为肉豆蔻(*Myristica fragrans* Houtt.)的种仁,凭证标本(YNYZ20190503)现存于云南中医药大学中药学院科研实验室。

1.2 提取与分离 粉碎过后的肉豆蔻种仁 20 kg,先用水蒸气蒸馏法提取挥发油大约 150 mL, 剩余的药渣用 70% 的乙醇浸泡提取 2 次,每次 48 h,将两次的提取液进行合并,减压回收至无醇味,剩余的水相分别使用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取。分别合并 3 部位的萃取液,减压浓缩后分别得到石油醚部位萃取物 790 g,乙酸乙酯部位萃取物 240 g,正丁醇部位萃取物 220 g。

将石油醚部位萃取物(790 g)过中压反相,以

(70%、80%、95%和 100%)甲醇-水梯度洗脱,得到 9 个流分段(Fr.1~Fr.9)。Fr.3(48.6 g)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(100:1~1:1)梯度洗脱,得到 6 个流分段(Fr.3.1~Fr.3.6)。Fr.3.6(690.3 mg)经反复的制备薄层、半制备液相得到化合物 **1**(8.3 mg)、**2**(9.7 mg)、**3**(6.1 mg)、**4**(6.9 mg)。Fr.4(56 g)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(100:1~1:1)梯度洗脱,得到 6 个流分段(Fr.4.1~Fr.4.6)。Fr.4.4(2.8 g)经 Sephadex LH-20 色谱,氯仿-甲醇(3:2),反复制备薄层,得到化合物 **5**(9 mg)。Fr.5(20.2 g)经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-乙酸乙酯(30:1:1~1:1:1)梯度洗脱,得到 7 个流分段(Fr.5.1~Fr.5.7)。Fr.5.4(861.6 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶色谱,氯仿-甲醇(3:2),制备薄层得到化合物 **6**(18.2 mg)、**7**(10.6 mg)。Fr.5.6(1.8 g)经 Sephadex LH-20 凝胶色谱,氯仿-甲醇(3:2)、制备薄层得到化合物 **8**(5.7 mg)。Fr.6(52.2 g)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(40:1~1:1)梯度洗脱,得到 7 个流分段(Fr.6.1~Fr.6.7)。Fr.6.4(2 g)经 Sephadex LH-20 色谱、硅胶柱色谱、反复制备薄层得到化合物 **9**(8 mg)、**10**(27.7 mg)。

将乙酸乙酯部位(240 g)过中压反相,以(20%~100%)甲醇-水梯度洗脱,得到 12 个流分段(Fr.1~Fr.12)。Fr.2(2.2 g)经 Sephadex LH-20 凝胶色谱,氯仿-甲醇(3:2),得到 6 个流分段(Fr.2.1~Fr.2.6)。Fr.2.1(161.6 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-丙酮(2:1:1)为洗脱剂得到化合物 **11**(37.3 mg)。Fr.4(10.8 g)经 Sephadex LH-20 色谱,氯仿-甲醇(3:2),得到 3 个流分段(Fr.4.1~Fr.4.3)。Fr.4.1(2.4 g)经反相柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶色谱,氯仿-甲醇(3:2)、硅胶柱色谱得到化合物 **12**(10.1 mg)。Fr.10(19 g)经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-乙酸乙酯(50:1:1~1:1:1)梯度洗脱,得到 7 个流分段(Fr.10.1~Fr.10.7)。Fr.10.6(552.5 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶色谱,氯仿-甲醇(3:2)、制备薄层得到化合物 **13**(10.1 mg)、**14**(10 mg)。Fr.10.7(3.2 g)经 Sephadex LH-20 凝胶色谱,氯仿-甲醇(3:2)、制备薄层得到化合物 **15**(85 mg)。

1.3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色油状物,ESI-MS m/z :381.1672 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{26}O_5$ 。 1H -NMR ($CDCl_3$, 500

MHz) δ : 6.81(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 6.76(1H, d, $J=1.7$ Hz, H-2), 6.69(1H, dd, $J=8.0$ Hz, 1.7 Hz, H-6), 6.40(2H, s, H-3', H-5'), 5.93~6.01(1H, m, H-8'), 5.47(1H, s, 4-OH), 5.08~5.13(2H, m, H-9'), 4.29~4.35(1H, m, H-8), 3.86(3H, s, 3-OCH₃), 3.79(6H, s, 2'-OCH₃, 6'-OCH₃), 3.34(2H, d, $J=6.7$ Hz, H-7'), 3.12(1H, dd, $J=13.5, 5.1$ Hz, H-7b), 2.72(1H, dd, $J=13.5$ Hz, 8.3 Hz, H-7a), 1.19(3H, d, $J=6.2$ Hz, H-9); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 153.6(C-2', C-6'), 146.1(C-3), 143.8(C-4), 137.3(C-8'), 135.5(C-1'), 134.3(C-1), 131.0(C-4'), 122.1(C-6), 116.0(C-9'), 113.9(C-5), 112.2(C-2), 105.5(C-3', C-5'), 80.2(C-8), 56.0(OCH₃), 55.9(OCH₃), 42.9(C-7), 40.6(C-7'), 19.6(C-9)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **1** 为 2-(4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯氧基)-1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烷。

化合物 **2**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 397.1622 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₁H₂₆O₆。 ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 6.88(1H, s, H-4), 6.84(2H, s, H-2, H-6), 6.44(2H, s, H-3', H-5'), 5.97(1H, m, H-8'), 5.60(1H, s, 5-OH), 5.09~5.14(2H, m, H-9'), 4.94(1H, s, 7-OH), 4.61(1H, d, $J=8.6$ Hz, H-7), 3.92(1H, dq, $J=8.5$ Hz, 6.3 Hz, H-8), 3.87(3H, s, 3-OCH₃), 3.86(6H, s, 2'-OCH₃, 6'-OCH₃), 3.35(2H, d, $J=6.7$ Hz, H-7'), 1.18(3H, d, $J=6.3$ Hz, H-9); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 152.8(C-2', C-6'), 146.6(C-3), 145.4(C-5), 137.2(C-8'), 136.0(C-4'), 135.4(C-1), 132.9(C-1'), 120.8(C-6), 116.3(C-9'), 114.1(C-4), 109.6(C-2), 105.6(C-3', C-5'), 86.8(C-7), 79.2(C-8), 56.1(2'-OCH₃, 6'-OCH₃), 56.1(3-OCH₃), 40.7(C-7'), 17.7(C-9)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **2** 为肉豆蔻异木脂素。

化合物 **3**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 427.1723 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₈O₇。 ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 6.55(2H, s, H-2, H-6), 6.46(2H, s, H-3', H-5'), 5.94~6.02(1H, m, H-8'), 5.43(1H, s, 7-OH), 5.11~5.15(2H, m, H-9'), 4.78(1H, d, $J=2.7$ Hz, H-7), 4.31(1H, dq, $J=2.9$ Hz, 6.4 Hz, H-8), 3.87(12H, s, OCH₃ \times 4), 3.37(2H, d, $J=6.7$ Hz, H-7'), 1.11(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-9); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 153.7

(C-2', C-6'), 147.0(C-3, C-5), 137.2(C-8'), 136.3(C-1'), 133.7(C-1), 133.2(C-4), 131.3(C-4'), 116.4(C-9'), 105.7(C-3', C-5'), 102.9(C-2, C-6), 82.5(C-7), 73.2(C-8), 56.5(OCH₃ \times 2), 56.3(OCH₃ \times 2), 40.7(C-7'), 12.9(C-9)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **3** 为 4-(2-(4-烯丙基-2,6-二甲氧基苯氧基)-1-羟丙基)-2,6-二甲氧基苯酚。

化合物 **4**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 367.1519 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₀H₂₄O₅。 ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 6.74~6.98(6H, m, Ar-H), 6.36(1H, dd, $J=15.7$ Hz, 1.5 Hz, H-7'), 6.12~6.19(1H, m, H-8'), 5.57(1H, s, 7-OH), 4.82(1H, d, $J=2.9$ Hz, H-7), 4.33(1H, dq, $J=3.1$ Hz, 6.4 Hz, H-8), 3.89(6H, s, OCH₃ \times 2), 3.53(1H, s, 4-OH), 1.88(3H, dd, $J=6.6$ Hz, 1.6 Hz, H-9'), 1.17(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-9); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 151.7(C-6'), 146.8(C-3), 145.8(C-1'), 144.9(C-4), 133.9(C-4'), 132.0(C-1), 130.6(C-7'), 125.2(C-8'), 120.1(C-6), 119.3(C-3'), 119.2(C-2'), 114.1(C-5), 109.5(C-5'), 109.0(C-2), 82.7(C-7), 73.7(C-8), 56.1(OCH₃), 56.0(OCH₃), 18.5(C-9'), 13.5(C-9)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **4** 为 (*E*)-4-(1-羟基-2-(2-甲氧基-4-(丙烯基)苯氧基)丙基)-2-甲氧基苯酚。

化合物 **5**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 343.1550 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₀H₂₂O₅。 ¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz) δ : 6.94(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-3), 6.87(1H, dd, $J=8.9, 0.8$ Hz, H-2), 6.85(1H, s, H-6), 6.47(1H, d, $J=1.3$ Hz, H-2'), 6.37(1H, d, $J=1.5$ Hz, H-6'), 5.95(1H, ddt, $J=16.8$ Hz, 10.0 Hz, 6.8 Hz, H-8'), 5.69(1H, s, 4-OH), 5.05~5.11(2H, m, H-9'), 4.57(1H, d, $J=7.9$ Hz, H-7), 4.06~4.12(1H, m, H-8), 3.91(3H, s, 5'-OCH₃), 3.89(3H, s, 3'-OCH₃), 3.29(2H, d, $J=6.7$ Hz, H-7'), 1.24(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-9); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz) δ : 148.7(C-5'), 147.0(C-5), 146.4(C-4), 144.6(C-3'), 137.5(C-8'), 132.5(C-1'), 131.5(C-4'), 129.1(C-1), 121.2(C-2), 115.9(C-9'), 114.6(C-3), 109.8(C-6), 109.6(C-2'), 104.7(C-6'), 81.0(C-7), 74.4(C-8), 56.3(3-OCH₃), 56.2

(5-OCH₃), 40.2(C-7'), 17.4(C-9)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **5** 为(-)-milius-fragrin。

化合物 **6**: 白色固体, ESI-MS m/z : 349.1410 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₀H₂₂O₄。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)δ: 6.98 (1H, s, H-2'), 6.90 (2H, s, H-5', H-6'), 6.79 (1H, s, H-4), 6.77 (1H, s, H-6), 6.37 (1H, dd, $J=15.7, 1.5$ Hz, H-8), 6.08~6.15 (1H, m, H-9), 5.67 (1H, s, 4'-OH), 5.10 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-2), 3.90 (3H, s, OCH₃), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.42~3.48 (1H, m, H-3), 1.87 (3H, dd, $J=6.6, 1.5$ Hz, 10-CH₃), 1.38 (3H, d, $J=6.8$ Hz, 3-CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz)δ: 146.8(C-3'), 146.6(C-7a), 145.9(C-4'), 144.2(C-7), 133.4(C-3a), 132.3(C-5), 132.2(C-1'), 131.0(C-8), 123.6(C-9), 120.1(C-6'), 114.2(C-5'), 113.4(C-4), 109.2(C-6), 109.0(C-2'), 93.9(C-2), 56.1(OCH₃), 56.0(OCH₃), 45.7(C-3), 18.5(10-CH₃), 17.6(3-CH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **6** 为去氢二异丁香酚。

化合物 **7**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 363.1567 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₁H₂₄O₄。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)δ: 6.98(1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 6.95(1H, dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, H-6'), 6.84(1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, s, H-6), 6.77 (1H, s, H-4), 6.36 (1H, dd, $J=15.7, 1.3$ Hz, H-8), 6.07~6.15 (1H, m, H-9), 5.12 (1H, d, $J=9.7$ Hz, H-2), 3.88 (3H, s, OCH₃), 3.87 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.43~3.50 (1H, m, H-3), 1.87 (3H, d, $J=5.7$ Hz, 10-CH₃), 1.38 (3H, d, $J=6.8$ Hz, 3-CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz)δ: 149.2 (C-3', C-4'), 146.7(C-7a), 144.3(C-7), 133.4(C-3a), 132.7(C-1'), 132.3(C-5), 131.0(C-8), 123.7(C-9), 119.4(C-6'), 113.4(C-6), 110.8(C-5'), 109.6(C-4), 109.3(C-2'), 93.8(C-2), 56.0(OCH₃ × 3), 45.7(C-3), 18.5(10-CH₃), 17.6(3-CH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **7** 为反式-2,3-二氢-7-甲氧基-2-(3,4-二甲氧基苯基)-3-甲基-5-(1-(E)-丙烯基)苯并呋喃。

化合物 **8**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 409.1623 [M+Na]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₆O₆。¹H-NMR(CDCl₃, 600 MHz)δ: 6.57(2H, s, H-2, H-6), 6.49(1H, d, $J=1.1$ Hz,

H-2'), 6.38(1H, d, $J=1.3$ Hz, H-6'), 5.91~5.98(1H, m, H-8'), 5.05~5.11 (2H, m, H-9'), 4.56 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-7), 4.07~4.12 (1H, m, H-8), 3.89(3H, s, OCH₃), 3.88(6H, s, 2'-OCH₃, 6'-OCH₃), 3.86(3H, s, OCH₃), 3.30(2H, d, $J=6.7$ Hz, H-7'), 1.26(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-9); ¹³C NMR(CDCl₃, 150 MHz)δ: 153.6(C-3, C-5), 148.7(C-5'), 144.4(C-3'), 138.4(C-4), 137.4(C-8'), 132.6(C-1, C-1'), 131.3(C-4'), 116.0(C-9'), 109.7(C-2'), 104.7(C-6'), 104.4(C-2, C-6), 81.1(C-7), 74.2(C-8), 61.0(OCH₃ × 2), 56.3(OCH₃ × 2), 40.2(C-7'), 17.5(C-9)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **8** 为(-)-eusiderin A。

化合物 **9**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 385.1656 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₄O₆。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)δ: 6.44~6.73(6H, m, Ar-H), 5.95(2H, s, -OCH₂O-), 5.92(2H, s, -OCH₂O-), 5.51(1H, d, $J=9.7$ Hz, H-7), 2.39(2H, dd, $J=7.7, 3.5$ Hz, H-7'), 2.00(3H, s, OAc), 1.89~1.93 (1H, m, H-8), 1.51~1.57 (2H, m, H-8'), 0.92(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-9), 0.78(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-9'); ¹³C NMR(CDCl₃, 125 MHz)δ: 170.5(C=O), 147.8(C-3), 147.6(C-3'), 147.3(C-4), 145.7(C-4'), 134.7(C-1'), 133.7(C-1), 121.9(C-6'), 121.4(C-6), 109.4(C-5'), 108.1(C-5, C-2'), 107.7(C-2), 101.2(-OCH₂O-), 100.9(-OCH₂O-), 79.4(C-7), 41.5(C-7'), 39.9(C-8), 34.8(C-8'), 21.4(OCH₃), 14.0(C-9'), 9.9(C-9)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **9** 为 acetyl oleiferin C。

化合物 **10**: 无色油状物, ESI-MS m/z : 255.1747 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₈H₂₄O。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz)δ: 7.27 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2, H-6), 6.79(2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3, H-5), 6.28 (1H, d, $J=16.2$ Hz, H-7), 6.08 (1H, d, $J=16.2$ Hz, H-8), 5.91 (1H, dd, $J=17.5, 10.7$ Hz, H-17), 5.12~5.15(1H, m, H-12), 5.02~5.07(2H, m, H-18), 4.95(1H, s, 4-OH), 1.98(2H, dd, $J=16.4, 7.5$ Hz, H-11), 1.70 (3H, s, 15-CH₃), 1.62 (3H, s, 14-CH₃), 1.50~1.54(2H, m, H-10), 1.22(3H, s, 16-CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz)δ: 154.8 (C-4), 146.1 (C-17), 136.0 (C-8), 131.4 (C-13), 131.1 (C-1), 127.5(C-2, C-6), 126.6(C-7), 125.0(C-12),

115.5(C-3,C-5),112.0(C-18),42.7(C-9),41.4(C-10),25.8(15-CH₃),23.5(16-CH₃),23.4(C-11),17.8(14-CH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[24],故鉴定化合物 **10** 为补骨脂酚。

化合物 **11**: 无色油状物,ESI-MS m/z :197.0809 [M-H]⁻,分子式为 C₁₀H₁₄O₄。¹H-NMR((CD₃)₂CO,600 MHz)δ:7.33(1H,s,4'-OH),6.86(1H,d,J=1.8 Hz,H-2'),6.72(1H,d,J=8.0 Hz,H-5'),6.67(1H,dd,J=8.0,1.9 Hz,H-6'),3.81(3H,s,OCH₃),3.75~3.79(1H,m,H-2),3.48~3.50(1H,m,H-1b),3.39~3.43(1H,m,H-1a),2.72(1H,dd,J=13.7,5.6 Hz,H-3b),2.60(1H,dd,J=13.7,7.3 Hz,H-3a);¹³C NMR((CD₃)₂CO,150 MHz)δ:148.1(C-3'),145.7(C-4'),131.4(C-1'),122.7(C-6'),115.5(C-5'),113.9(C-2'),74.1(C-2),66.5(C-1),56.2(3-OCH₃),40.4(C-3)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[25],故鉴定化合物 **11** 为 3-(4-羟基-3-甲氧苯基)丙烷-1,2-二醇。

化合物 **12**: 黄色油状物,ESI-MS m/z :195.1009 [M+H]⁺,分子式为 C₁₁H₁₄O₃。¹H-NMR(CDCl₃,500 MHz)δ:6.83(1H,d,J=8.1 Hz,H-5'),6.75(1H,dd,J=8.1,1.7 Hz,H-6'),6.70(1H,d,J=1.7 Hz,H-2'),3.86(6H,s,OCH₃),3.62(2H,s,H-1),2.14(3H,s,3-CH₃);¹³C NMR(CDCl₃,125 MHz)δ:206.9(C-2),149.3(C-3'),148.3(C-4'),126.9(C-1'),121.7(C-2'),112.6(C-5),111.6(C-6'),56.0(OCH₃),56.0(OCH₃),50.7(C-1),29.2(C-3)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[26],故鉴定化合物 **12** 为 1-(3,4-二甲氧苯基)丙烷-2-酮。

化合物 **13**:黄色固体,ESI-MS m/z :325.1434 [M+H]⁺,分子式为 C₂₀H₂₀O₄。¹H-NMR((CD₃)₂CO,500 MHz)δ:13.50(1H,s,2'-OH),7.95(1H,s,H-6'),7.82(1H,d,J=15.4 Hz,H-8),7.73(1H,d,J=15.4 Hz,H-7),7.70(2H,d,J=8.6 Hz,H-2,H-6),6.93(2H,d,J=8.6 Hz,H-3,H-5),6.41(1H,s,H-3'),5.34(1H,dddt,J=8.5,5.6,2.8,1.3 Hz,H-8'),3.30(2H,d,J=7.1 Hz,H-7'),1.73(3H,s,H-11'),1.72(3H,s,H-10');¹³C NMR((CD₃)₂CO,125 MHz)δ:191.8(C=O),165.0(C-4'),162.5(C-2'),160.1(C-4),143.9(C-8),131.5(C-9'),131.3(C-6'),130.7(C-2,C-6),126.7(C-1),123.0(C-8'),120.4(C-5'),117.5(C-7),

115.9(C-3,C-5),113.4(C-1'),102.6(C-3'),27.9(C-7'),24.9(C-10'),17.0(C-11')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[27],故鉴定化合物 **13** 为 broussonchalcone B。

化合物 **14**: 黄色油状物,ESI-MS m/z :361.1407 [M+Na]⁺,分子式为 C₂₁H₂₂O₄。¹H-NMR(CDCl₃,500 MHz)δ:7.68(1H,s,H-5),7.34(2H,d,J=8.5 Hz,H-2',H-6'),6.90(2H,d,J=8.6 Hz,H-3',H-5'),6.44(1H,s,H-8),5.88(1H,s,4'-OH),5.38(1H,dd,J=13.4,2.8 Hz,H-2),5.27(1H,t,J=8.0 Hz,H-2''),3.84(3H,s,7-OCH₃),3.24(2H,d,J=7.3 Hz,H-1''),3.04(1H,dd,J=16.9,13.4 Hz,H-3b),2.78(1H,dd,J=16.9,2.9 Hz,H-3a),1.73(3H,s,H-4''),1.69(3H,s,H-5'');¹³C NMR(CDCl₃,125 MHz)δ:191.6(C-4),164.4(C-7),162.6(C-9),156.5(C-4'),133.2(C-3''),131.0(C-1'),128.1(C-2',C-6'),127.2(C-5),125.1(C-6),121.8(C-2''),115.8(C-3',C-5'),114.0(C-10),99.0(C-8),79.9(C-2),55.9(7-OCH₃),44.2(C-3),27.9(C-1''),26.0(C-4''),17.9(C-5'')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[28],故鉴定化合物 **14** 为 bava-chinin。

化合物 **15**:黄绿色油状物,ESI-MS m/z :359.1852 [M+H]⁺,分子式为 C₂₁H₂₆O₅。¹H-NMR(CD₃OD,500 MHz)δ:7.20(1H,t,J=8.2 Hz,H-19),6.67(1H,d,J=8.0 Hz,H-14),6.61(1H,d,J=1.4 Hz,H-11),6.49(1H,dd,J=8.0,1.5 Hz,H-15),6.35(2H,d,J=8.2 Hz,H-18,H-20),3.12(2H,t,J=7.4 Hz,H-2),2.45(2H,t,J=7.6 Hz,H-9),1.65~1.71(2H,m,CH₂-3),1.54~1.59(2H,m,CH₂-8),1.29~1.38(8H,m,CH₂-4,5,6,7);¹³C NMR(CD₃OD,125 MHz)δ:209.7(C-1),163.4(C-17,C-21),146.0(C-12),144.0(C-13),136.8(C-19),135.8(C-10),120.6(C-15),116.5(C-11),116.2(C-14),111.4(C-16),108.3(C-18,C-20),45.7(C-2),36.3(C-9),32.9(C-8),30.6(C-5,C-6),30.5(C-4),30.3(C-7),25.8(C-3)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[29],故鉴定化合物 **15** 为 malabaricone C。

1.4 抗炎活性实验 采用 MTT 法检测化合物对细胞活力影响,将 RAW 264.7 细胞按密度为 4×10⁴/孔接种于 96 孔板,37℃培养箱中培养 24 h,加入含不同浓度的化合物继续培养 24 h。设置正常对照组和

空白对照组,每孔加入 20 μL MTT(5 mg/mL),继续培养 3.5 h 后,吸去板内培养液,每孔加入 150 μL DMSO,避光振荡 10 min 使其混匀,多功能读板机 490 nm 处测量吸光度值^[30]。

采用 Griess 法进行体外抑制一氧化氮作用筛选,取生长状态良好的 RAW 264.7 细胞,按密度为 4×10^4 孔接种于 96 孔板,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养 24 h,设置对照组、模型组和给药组并继续培养 24 h。收集上清后加入 Griess 试剂,多功能读板机 540 nm 处测量吸光度值^[31]。

活性筛选结果见表 1。

表 1 分离化合物对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 生成抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物 ^a	IC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	CC ₅₀ /($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
石油醚部位萃取物 ^b	61.08 \pm 5.76	>100
乙酸乙酯部位萃取物 ^b	22.53 \pm 2.84	>100
挥发油 ^b	>100	>100
1	34.48 \pm 3.05	>100
7	42.76 \pm 1.53	>100
13	8.57 \pm 0.11	69.633 \pm 12.03
15	12.01 \pm 1.27	25.53 \pm 3.47
L-NMMA ^b	11.18 \pm 0.46	>100

注:a 化合物 2~6、8~12、14 未显示抑制活性;b 单位为 $\mu\text{g}/\text{mL}$

1.5 数据处理 数据利用 SPSS 24.0 统计软件进行数据处理及统计分析,实验数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA)统计,统计结果 $P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

本研究综合运用硅胶柱色谱、薄层制备、中压及常压反相 ODS 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱、半制备 HPLC 等多种分离纯化技术,结合核磁共振、质谱等波谱鉴定技术对肉豆蔻的化学成分进行研究,从中分离鉴定了 15 个化合物。化合物 1~9 为木脂素类化合物,化合物 1~4 为 8-O-4' 型木脂素,化合物 6~7 为苯并呋喃型木脂素,是肉豆蔻中的主要成分类型;化合物 5 和 8 为二氧六环型木脂素,首次从该属

植物中报道;化合物 9 为二苄基丁烷型木脂素,首次从该属植物中分离得到;化合物 10 为异戊二烯基酚萜类化合物,首次从该属植物中分离得到;化合物 11~12 为简单苯丙素,首次从该属植物中分离得到;化合物 13~14 为黄酮类化合物,首次从该属植物中分离得到;化合物 15 为二芳基烷烃类化合物。该研究结果进一步揭示肉豆蔻的化学成分,为活性研究提供了物质基础。

抗炎活性结果表明,化合物 13 和 15 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NO 释放有较强抑制活性,其 IC₅₀ 分别为(8.57 \pm 0.11)和(12.01 \pm 1.27) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。化合物 1 和 7 显示一定抑制活性,其 IC₅₀ 分别为(34.48 \pm 3.05)和(42.76 \pm 1.53) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。以上结果丰富了肉豆蔻的抗炎活性,为进一步开发利用肉豆蔻的药用价值和开展后续研究提供了参考。

参考文献:

- [1] 马存,洗少华,相雨,等. 肉豆蔻药理作用研究进展[J]. 中国现代中药,2017,19(8):1200-1206.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版,2020:141.
- [3] MORIKAWA T, HACHIMAN I, MATSUO K, et al. Neolignans from the arils of *Myristica fragrans* as potent antagonists of CC chemokine receptor 3[J]. J Nat Prod, 2016, 79(8):2005-2013.
- [4] KAPOOR I, SINGH B, SINGH G, et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil and oleoresins of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) fruits[J]. Int J Food Prop, 2013, 16(5):1059-1070.
- [5] DUAN L, TAO H W, HAO X J, et al. Cytotoxic and antioxidative phenolic compounds from the traditional Chinese medicinal plant, *Myristica fragrans* [J]. Planta Med, 2009, 75(11):1241-1245.
- [6] NGUYEN P H, LE T V T, KANG H W, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) activators from *Myristica fragrans* (nutmeg) and their anti-obesity effect [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20(14):4128-4131.
- [7] ACUÑA U M, CARCACHE P J B, MATTHEW S, et al. New acyclic bis phenylpropanoid and neolignans, from *Myristica fragrans* Houtt., exhibiting PARP-1 and NF- κ B inhibitory effects[J]. Food Chem, 2016, 202:269-275.
- [8] CHUMKAEW P, SRISAWAT T. New neolignans from the

- seeds of *Myristica fragrans* and their cytotoxic activities [J]. *J Nat Med*, 2019, 73(1):273-277.
- [9] MORIKAWA T, HACHIMAN I, NINOMIYA K, et al. De-granulation inhibitors from the arils of *Myristica fragrans* in antigen-stimulated rat basophilic leukemia cells[J]. *J Nat Med*, 2018, 72(2):464-473.
- [10] 季霄, 吴士龙, 贾天柱, 等. 肉豆蔻的化学成分研究[J]. *中草药*, 2014, 45(23):3367-3372.
- [11] OLAJIDE O A, MAKINDE J M, AWE S O. Evaluation of the pharmacological properties of nutmeg oil in rats and mice[J]. *Pharm Biol*, 2000, 38(5):385-390.
- [12] CAO G Y, YANG X W, XU W, et al. New inhibitors of nitric oxide production from the seeds of *Myristica fragrans*[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 62:167-171.
- [13] ZHANG C R, JAYASHRE E, KUMAR P S, et al. Antioxidant and antiinflammatory compounds in nutmeg(*Myristica Fragrans*) pericarp as determined by in vitro assays [J]. *Nat Prod Commun*, 2015, 10(8):1399-1402.
- [14] VAKENTE V M M, JHAM G N, DHINGRA O D, et al. Composition and antifungal activity of the Brazilian *Myristica fragrans* Houltt. essential oil[J]. *J Food Saf*, 2011, 31:197-202.
- [15] YANG S, NA M K, JANG J P, et al. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B by lignans from *Myristica fragrans*[J]. *Phytother Res*, 2006, 20(8):680-682.
- [16] HATTORI M, HADA S, SHU Y Z, et al. New acyclic bis phenylpropanoids from the aril of *Myristica fragrans* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(2):668-674.
- [17] 杨秀伟, 黄鑫, 艾合买提·买买提. 肉豆蔻中新的新木脂素类化合物[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(4):397-402.
- [18] HADA S, HATTORI M, TEZUKA Y, et al. New neolignans and lignans from the aril of *Myristica fragrans* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(2):563-568.
- [19] SAWASDEE K, CHAOWASKU T, LIPIPUN V, et al. New neolignans and a lignan from *Miliusa fragrans*, and their anti-herpetic and cytotoxic activities[J]. *Tetrahedron Lett*, 2013, 54(32):4259-4263.
- [20] 李秀芳, 吴立军, 贾天柱, 等. 肉豆蔻的化学成分[J]. *沈阳药科大学学报*, 2006(11):698-701, 734.
- [21] HATTORI M, YANG X W, SHU Y Z, et al. New constituents of the aril of *Myristica fragrans*[J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(2):648-653.
- [22] PILKINTON L I, BARKER D. Asymmetric synthesis and CD investigation of the 1,4-benzodioxane lignans eusiderins A, B, C, G, L, and M [J]. *J Org Chem*, 2012, 77(18):8156-8166.
- [23] STEFANELLO M E A, ALVARENGA M A, TOMA I N. New neolignans from *Talauma ovata*[J]. *Fitoterapia*, 2002, 73(2):135-139.
- [24] 高胡彤悦, 高盼盼, 臧应达, 等. 补骨脂的化学成分研究[J]. *中国药物警戒*, 2021, 18(6):556-561.
- [25] KIKUZAKI H, HARA S, KAWAI Y, et al. Antioxidative phenylpropanoids from berries of *Pimenta dioica*[J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(7):1307-1312.
- [26] 王扣, 秦红波, 李明明. (±)-Galbulin 和(±)-8,8'-epi-aristoligone的全合成[J]. *有机化学*, 2016, 36(12):2928-2932.
- [27] MATSUMOTO J, FUJIMOTO T, TAKINO C, et al. Components of *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. I. Structures of two new isoprenylated flavonols and two chalcone derivatives[J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(8):3250-3256.
- [28] LEE M H, KIM J Y, RYU J H. Prenylflavones from *Psoralea corylifolia* inhibit nitric oxide synthase expression through the inhibition of I- κ B- α degradation in activated microglial cells[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(12):2253-2257.
- [29] MAIA A, SCHMITZ-AFONSO I, MARTIN M T, et al. Acylphenols from *Myristica crassa* as new acetylcholinesterase inhibitors[J]. *Planta Med*, 2008, 74(12):1457-1462.
- [30] ZHAN R, LI D D, LIU Y L, et al. Structural elucidation, bio-inspired synthesis, and biological activities of cyclic diarylpropanes from *Horsfieldia kingii*[J]. *Tetrahedron*, 2020, 76(40):131494.
- [31] 李大山, 曾天艳, 马莎, 等. 肉豆蔻中二芳基丙烷类抗炎活性成分[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(5):779-783.

(收稿日期:2022-12-27)