小花八角果实中1个新的木脂素

雷 铁[1], 赵秋叶[1,3], 李珍全[1,3], 殷世焕[1,3], 吴兴德[2], 宋流东[1,3*], 丁林芬[1,3*]

(1. 昆明医科大学药学院暨云南省天然药物药理重点实验室, 云南 昆明 650500; 2. 云南民族大学民族药资源化学教育部重点实验室, 云南 昆明650504; 3. 昆明医科大学云南省现代生物医药产业学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 采用正相硅胶、Sephadex LH-20、MCI-gel、半制备HPLC等色谱技术, 对小花八角95%乙醇提取物进行分离纯化, 运用NMR和MS等现代波谱学方法对分离得到的化合物进行结构鉴定。从小花八角果实中分离得到12个化合物, 分别鉴定为小花八角醇A (**1**)、vanilloloside (**2**)、苯甲酸-4-*O*-*β*-*D*-葡萄糖苷 (**3**)、天麻素 (**4**)、淫羊藿次苷D_2 (**5**)、丁香烷-1,9*β*-二醇 (**6**)、丁子香烷-2*β*,9*α*-二醇 (**7**)、莽草酸甲酯 (**8**)、原儿茶酸甲酯 (**9**)、对羟基苯甲醇 (**10**)、对羟基苯乙醇 (**11**)、对羟基苯乙酸甲酯 (**12**)。其中, 化合物**1**为新骨架木脂素类化合物, 命名为小花八角醇A。化合物**2**～**12**为首次从该植物中分离得到。采用神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 诱导大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞 (rat pheochromocytoma cell line, PC12) 分化和1-甲基-4-苯基吡啶离子 (MPP^+) 诱导PC12细胞损伤模型对化合物**1**进行活性评价, 结果显示, 化合物**1**未表现出明显的神经营养和神经保护活性。

关键词: 小花八角; 木脂素; 小花八角醇A; 神经营养活性; 神经保护活性

中图分类号: R284 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)08-2555-06

A new lignan from the fruits of *Illicium micranthum* Dunn

LEI Tie[1], ZHAO Qiu-ye[1,3], LI Zhen-quan[1,3], YIN Shi-huan[1,3], WU Xing-de[2], SONG Liu-dong[1,3*], DING Lin-fen[1,3*]

(*1. School of Pharmaceutical Sciences & Yunnan Key Laboratory of Pharmacology for Natural Products, Kunming Medical University, Kunming 650500, China; 2. Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Chemistry, Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming 650504, China; 3. Yunnan College of Modern Biomedical Industry, Kunming Medical University, Kunming 650500, China*)

Abstract: The 95% ethanol extract of *llicium micranthum* was separated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, MCI-gel and semi-preparative HPLC. The chemical structures of the isolated compounds were identified by NMR and MS. Twelve compounds were isolated and identified as illimicranol A (**1**), vanilloloside (**2**), 4-*O*-*β*-*D*-glucosyl-benzoic acid (**3**), gastrodin (**4**), icariside D_2 (**5**), caryolane-1,9*β*-diol (**6**), clovane-2*β*,9*α*-diol (**7**), methyl shikimate (**8**), protocatechuic acid methyl ester (**9**), *p*-hydroxybenzyl alcohol (**10**), *p*-hydroxyphenylethanol (**11**), methyl *p*-hydroxyphenylacetate (**12**). Among them, compound **1** is a unique lignan with new carbon skeleton, named illimicranol A. Compounds **2**－**12** are firstly isolated from this plant. The effects of compound **1** on the differentiation of PC12 cells induced by NGF and the damage of PC12 cells induced by MPP^+ were evaluated. The results showed that compound **1** did not exhibit obvious neurotrophic and neuroprotective activities.

Key words: *Illicium micranthum* Dunn; lignan; illimicranol A; neurotrophic activity; neuroprotective activity

收稿日期: 2025-02-25; 修回日期: 2025-05-09.

基金项目: 云南省基础研究计划面上项目 (202301AT070266); 云南省高层次人才培养支持计划“教学名师”项目 (YNWRJXMS2020052); 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项重点项目 (202201AY070001-002).

*通讯作者 E-mail: dinglinfen2007@163.com; ynsld@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0198

小花八角 *Illicium micranthum* Dunn 隶属于八角科 Illiciaceae 八角属 *Illicium*, 是我国特色的植物资源之一, 其分布范围广泛, 涵盖湖北、湖南、广东、广西、四川、贵州、云南等多个地区。常生长于海拔 500～2 600 米的灌丛、混交林内, 或是山涧、山谷疏林、密林, 以及峡谷溪边等环境[1]。从药用价值来看, 该植物味辛、微苦, 性温, 其根皮和树皮具有散瘀止痛、祛风除湿的功效, 可用于治疗风湿腰痛、跌打损伤等病症; 而它的叶和果实则具有祛风解表、行气止痛、止吐泻的功效, 可用于治疗风湿骨痛、感冒风寒、呕吐腹泻、胸腹气痛等不适症状[2]。在化学成分研究方面, 小花八角中富含异戊烯基取代的 C_6-C_3 化合物、萜类、木脂素、黄酮等多种成分[3-6]。本课题组在前期研究中, 从小花八角果实中发现 4 个高度氧化的倍半萜, 其中 illimicranolide A 是首个通过 C-11/C-8 形成 γ-内酯环, 并且具有 5/5/6/5 稠合四环体系的 seco-prezizaane 倍半萜, 进一步的活性研究显示, 在 10 μmol·L^{-1} 浓度时, illimicranolide A 对 NGF 诱导的 PC12 细胞表现出显著的神经营养活性, 其分化率为 10.34%[7], 该研究成果有望为帕金森病和阿尔茨海默病治疗药物的研发提供科学依据。因此本实验对小花八角 95% 乙醇提取物进行系统的分离研究, 旨在发现更多结构新颖和活性显著的化合物, 丰富小花八角结构多样性, 为后续的深度开发与合理利用奠定基础。本实验采用现代色谱分离技术, 对其果实开展系统的化学成分研究, 从中分离得到 12 个化合物 (图 1), 包括 1 个新骨架木脂素类化合物小花八角醇 A (**1**)。进一步对化合物 **1** 开展活性研究, 结果发现未表现出明显的神经营养和神经保护活性。

结果与讨论

1 化合物 1 的结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末。根据 HR-ESI-MS *m/z* 383.146 3 $[M+Na]^+$ (计算值: 383.146 5) 结合 ^{1}H 和 ^{13}C NMR 谱推测分子式为 $C_{20}H_{24}O_6$, 不饱和度为 9。IR (KBr) ν_{max}: 3 422、1 604、1 514 和 1 451 cm^{-1}, 表明该化合物可能含有羟基和芳香环。^{1}H NMR (表 1) 和 HSQC 谱显示 2 个甲基信号 δ_H 1.03 (3H, d, J = 6.4 Hz), 1.11 (3H, d, J = 6.4 Hz), 2 个甲氧基信号 δ_H 3.81 (3H, s), 3.76 (3H, s), 1 个次甲基信号 3.54 (1H, d, J = 9.7 Hz), 1 组苯环上的 ABX 自旋系统氢信号 δ_H 6.59 (1H, s), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz), 6.56 (1H, dd, J = 8.0, 1.6 Hz), 3 个连氧的次甲基信号 δ_H 4.93 (1H, s), 4.21 (1H, dd, J = 6.4, 3.3 Hz), 3.76 (1H, overlap)。此外, 氢谱中还显示含有 2 个芳香质子信号 δ_H 6.16 (1H, s), 6.72 (1H, s)。^{13}C NMR (表 1) 结合 HSQC 谱显示化合物 **1** 有 20 个碳信号, 包括 2 个甲氧基碳信号 δ_C 56.4, 56.3, 2 个甲基碳信号 δ_C 16.5, 20.1, 1 个次甲基碳信号 δ_C 53.0 (C-7′), 3 个连氧的次甲基碳信号 δ_C 80.9 (C-7), 72.1 (C-8), 77.1 (C-8′), 12 个芳香区碳信号 δ_C 127.9 (C-1), 133.5 (C-2), 116.8 (C-3), 146.4 (C-4), 147.6 (C-5), 108.2 (C-6), 135.2 (C-1′), 113.7 (C-2′), 149.2 (C-3′), 146.0 (C-4′), 116.2 (C-5′), 123.3 (C-6′)。上述 ^{1}H 和 ^{13}C NMR 数据初步推测化合物 **1** 由两个苯丙素结构单元连接而成的木脂素类化合物 (图 1)。

^{1}H-^{1}H COSY 谱 (图 2) 中 H-7 (δ_H 4.93)/H-8 (δ_H 4.21)/H-9 (δ_H 1.03) 相关确定有一个-CH (C-7)/-CH (C-8)/-CH_3 (C-9) 结构片段。HMBC 谱 (图 2) 中 H-7 和 C-1, C-2, C-6 相关, H-6 (δ_H 6.72) 和 C-1, C-2, C-4, C-5 相关, H-3 (δ_H 6.16) 和 C-1, C-2, C-4, C-5 相关, 5-OCH_3 (δ_H 3.81) 和 C-5 相关, 以及 H-6 和 5-OCH_3 的 ROESY 相关。基于这些信息, 可以确定该结构中存在一个 C-4 位为羟基取代、C-5 位有甲氧基的 1,2,4,5-四取代苯环, 进而确定第一个苯丙素结构单元。^{1}H-^{1}H COSY 谱中 H-7′ (δ_H 3.54)/H-8′ (δ_H 3.76)/H-9′ (δ_H 1.11) 相关, 确定有-CH (C-7′)/-CH (C-8′)/-CH_3 (C-9′) 结构片段。HMBC 谱中 H-2′ (δ_H 6.59) 和 C-1′, C-3′, C-4′, C-6′相关, H-5′ (δ_H 6.74) 和 C-1′,

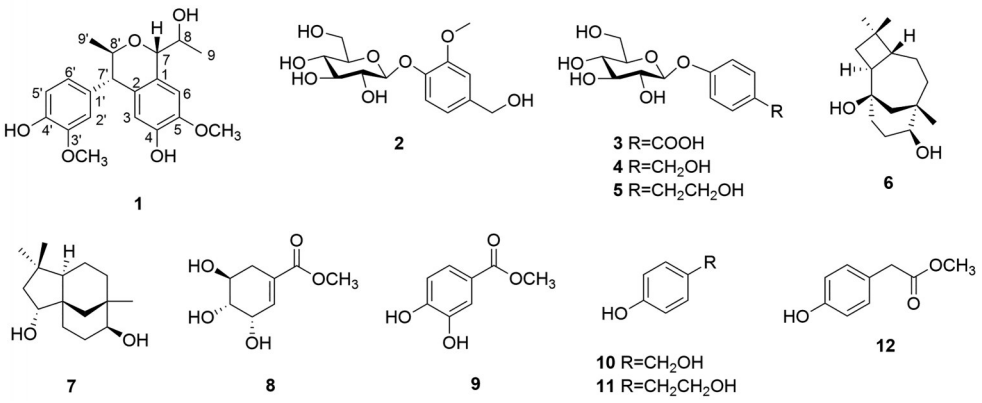


Figure 1 Structures of compounds **1**−**12** isolated from *Illicium micranthum*

C-3′, C-4′相关, H-6′ (δ_H 6.56) 和 C-1′, C-2′, C-4′相关, H-7′和C-1′, C-2′, C-6′相关, 3′-OCH_3 (δ_H 3.76) 和C-3′相关, 以及H-2′和3′-OCH_3的ROESY相关。由此可以确定存在一个C-3′位为甲氧基、C-4′位为羟基取代的1,3,4-三取代苯环, 并确定第二个苯丙素结构单元。根据HMBC谱中H-7′和C-1, C-2, C-3相关, 说明两个苯丙素结构单元通过C-2/C-7′碳碳键相连。此外, 该化合物的不饱和度为9, 而两个苯环仅占8个不饱和度, 说明该化合物结构中还存在一个环。三个被氧化的次甲基中, C-7和C-8′的^{13}C NMR化学位移处于较低场, 说明C-7和C-8′通过氧原子连接形成一个六元氧环。HMBC谱中H-7和C-8′相关进一步证实了该推测。ROESY谱 (图2) 中, H-7′和H_3-9′相关, H-7和H-7′相关, 表明H-7′和H-8′为反式, 并且H-7、H-7′和H_3-9′均为*β*构型。因此, 化合物**1**确定为两个苯丙素结构单元通过C-2/C-7′连接的新骨架木脂素类化合物, 命名为小花八角醇A。

Table 1　The ^{1}H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compound **1** in CD_3OD

No.	δ_H	δ_C
1		127.9
2		133.5
3	6.16 (s)	116.8
4		146.4
5		147.6
6	6.72 (s)	108.2
7	4.93 (s)	80.9
8	4.21 (dd, *J* = 6.4, 3.3 Hz)	72.1
9	1.03 (d, *J* = 6.4 Hz)	16.5
1′		135.2
2′	6.59 (s)	113.7
3′		149.2
4′		146.0
5′	6.74 (d, *J* = 8.0 Hz)	116.2
6′	6.56 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz)	123.3
7′	3.54 (d, *J* = 9.7 Hz)	53.0
8′	3.76 (overlap)	77.1
9′	1.11 (d, *J* = 6.4 Hz)	20.1
5-OCH_3	3.81 (s)	56.4
3′-OCH_3	3.76 (s)	56.3

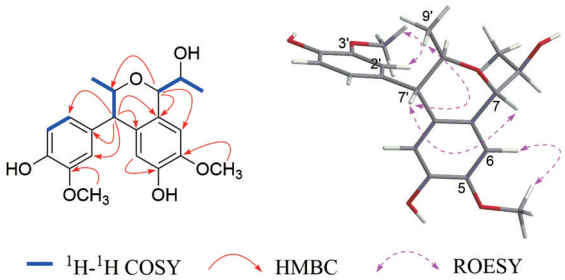


Figure 2　Key ^{1}H-^{1}H COSY, HMBC and ROESY correlations of compound **1**

2　神经营养和神经保护活性

分别采用NGF诱导的PC12细胞分化模型和MPP^+诱导的PC12细胞损伤模型, 评价化合物**1**的神经营养和神经保护活性。结果显示, 相较于阴性对照组5 ng·mL^{-1} NGF分化率为4.40%, 阳性对照组50 ng·mL^{-1} NGF分化率为19.27%, 化合物**1**对NGF诱导的PC12细胞分化率为4.52%, 这说明化合物**1**无明显神经营养活性。同时, 在20 μmol·L^{-1}浓度下, 相较于阴性对照组68.27% ± 0.51%的细胞存活率, 化合物**1**对MPP^+诱导的PC12细胞存活率为68.01% ± 0.86%, 这表明化合物**1**无明显神经保护活性。

实验部分

Avance III 500/600 MHz核磁共振仪 (德国布鲁克公司); Shimadzu UPLC-IT-TOF质谱联用仪 (日本岛津公司); Thermo NICOLET iS10中红外光谱仪 (美国赛默飞公司); Jasco P-1020型全自动数字旋光仪 (日本Jasco公司); Agilent 1200型高效液相色谱仪, Zorbax SB-C_{18}色谱柱 (美国安捷伦公司); 中压液相色谱仪 (上海利穗有限公司); Sephadex LH-20 (瑞典Pharmacia公司); MCI-gel (CHP 20P, 75～150 μm, 日本三菱化学株式会社); 硅胶、GF_{254}硅胶板 (临沂市海祥化工厂); 分析甲醇 (玉溪新蓝景化学工业有限公司); MPP^+和NGF购自Sigma公司; MTS购自Promega公司。

小花八角果实于2020年8月采自云南西双版纳, 经昆明医科大学周静教授鉴定为八角科八角属植物小花八角 *Illicium micranthum* Dunn果实, 标本 (20200801a) 保存在昆明医科大学药学院。

1　提取分离

小花八角干燥果实10 kg, 经粉碎处理后采用95%乙醇冷浸提取3次, 每次48 h。提取完成后, 合并3次提取液并减压浓缩得到淡黄色固体1 825 g。随后用适量甲醇溶解并过滤, 滤液减压浓缩获得浸膏720 g。将所得浸膏均匀分散于水中, 利用乙酸乙酯萃取3次, 每次萃取完成后, 将萃取液合并, 减压浓缩得到乙酸乙酯层浸膏200 g。利用中压液相色谱 (MCI-gel) 对乙酸乙酯层浸膏进行分离, 以甲醇–水 (10∶90→100∶0) 为洗脱剂, 合并相同组分得到Fr.1～Fr.6。Fr.1 (4.4 g) 采用正相硅胶柱层析, 以石油醚–丙酮 (100∶1→8∶2) 为洗脱剂, 合并相同组分得到Fr.1-1～Fr.1-6。Fr.1-1 (65 mg) 和Fr.1-5 (75 mg) 分别经Sephadex LH-20 (甲醇) 纯化后得化合物**10** (3.5 mg) 和**8** (13 mg)。Fr.2 (2.4 g) 经正相硅胶柱层析, 以氯仿–甲醇 (40∶1→8∶2) 梯度洗脱得到Fr.2-1～Fr.2-6。Fr.2-2 (275 mg) 经正相硅胶柱层析, 以氯仿–甲醇 (20∶1→10∶1) 梯度洗脱得到Fr.2-2-1～

Fr.2-2-2。Fr.2-2-2 (19 mg) 经制备 TLC, 以氯仿−甲醇 (9.4∶0.6) 分离得到化合物**4** (6 mg)。Fr.2-4 (450 mg) 经正相硅胶柱层析, 以氯仿−丙酮 (9∶1→6∶4) 梯度洗脱得到化合物**2** (6 mg)。Fr.2-5 (820 mg) 经正相硅胶柱层析, 以氯仿−丙酮 (15∶1→6∶4) 梯度洗脱得到Fr.2-5-1～Fr.2-5-3。Fr.2-5-2 (96 mg) 经正相硅胶柱层, 以氯仿−丙酮 (6∶4) 洗脱得到化合物**3** (5 mg)。Fr.2-5-3 (45 mg) 经半制备 HPLC (甲醇−水, 15∶85) 分离得到化合物**5** (10 mg, t_R = 8.2 min)。Fr.3 (24 g) 经正相硅胶柱层析, 以氯仿−甲醇 (40∶1→5∶5) 梯度洗脱得到Fr.3-1～Fr.3-6。Fr.3-1 (363 mg) 经正相硅胶柱层析, 以石油醚−乙酸乙酯 (6∶1) 洗脱得到化合物**9** (33 mg)。Fr.3-2 (560 mg) 经正相硅胶柱层析, 以石油醚−丙酮 (30∶1→8∶2) 梯度洗脱得到Fr.3-2-1～Fr.3-2-4。Fr.3-2-1 (68 mg) 经半制备 HPLC (甲醇−水, 25∶75) 分离得到化合物**12** (25 mg, t_R = 11.1 min)。Fr.3-2-3 (27 mg) 经半制备 HPLC (甲醇−水, 17∶83) 分离得到化合物**11** (9 mg, t_R = 25.5 min)。Fr.3-3 (230 mg) 经正相硅胶柱层析, 以石油醚−乙酸乙酯 (10∶1) 洗脱得到Fr.3-3-1～Fr3-3-3。Fr.3-3-3 (18 mg) 经半制备 HPLC (甲醇−水, 40∶60) 分离得到化合物**1** (1.5 mg, t_R = 14.0 min)。Fr.5 (22 g) 经正相硅胶柱层析, 以氯仿−丙酮 (20∶1→5∶5) 梯度洗脱得到Fr.5-1～Fr.5-4。Fr.5-3 (125 mg) 经正相硅胶柱层析, 以石油醚−乙酸乙酯 (4∶1) 洗脱得到化合物**6** (19 mg)。Fr.5-4 (280 mg) 经正相硅胶柱层析, 以氯仿−丙酮 (6∶1) 洗脱得到化合物**7** (25 mg)。

2 结构鉴定

化合物**1** 白色粉末, $[\alpha]_D^{20}$ −25.0 (*c* 0.05, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) 205 (4.21), 230 (3.65), 285 (3.35) nm; IR (KBr) ν_{max} 3 422, 2 930, 1 604, 1 514, 1 451, 1 262, 1 208, 1 085 cm^{-1}; ESI-MS *m*/*z* 383 $[M+Na]^+$; HR-ESI-MS *m*/*z* 383.146 3 $[M+Na]^+$ (计算值为 $C_{20}H_{24}O_6Na$, 383.146 5); ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) 数据见表1。

化合物**2** 无色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 339 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{14}H_{20}O_8$。^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.12 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 7.02 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.87 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 4.86 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-1′), 4.53 (2H, s, H-7), 3.86 (3H, s, 3-OCH_3), 3.28～3.86 (6H, m, H-2′,3′,4′,5′,6′); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 137.7 (C-1), 112.5 (C-2), 150.7 (C-3), 147.2 (C-4), 117.9 (C-5), 120.6 (C-6), 64.9 (C-7), 102.9 (C-1′), 74.9 (C-2′), 77.8 (C-3′), 71.3 (C-4′), 78.2 (C-5′), 62.4 (C-6′), 56.6 (3-OCH_3)。以上数据与文献[8]报道一致, 故鉴定化合物**2**为vanilloloside。

化合物**3** 无色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 323 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{16}O_8$。^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.96 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-2, 6), 7.13 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-3,5), 5.09 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-1′), 3.29～3.91 (6H, m, H-2′,3′,4′,5′,6′); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 125.7 (C-1), 132.6 (C-2,6), 117.1 (C-3,5), 162.7 (C-4), 169.6 (C-7), 101.6 (C-1′), 74.8 (C-2′), 77.9 (C-3′), 71.2 (C-4′), 78.2 (C-5′), 62.4 (C-6′)。以上数据与文献[9]报道一致, 故鉴定化合物**3**为苯甲酸-4-*O*-*β*-*D*-葡萄糖苷。

化合物**4** 无色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 309 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{18}O_7$。^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.28 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2,6), 7.07 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3,5), 5.08 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1′), 4.53 (2H, s, H-7), 3.88 (1H, dd, *J* = 12.0, 2.0 Hz, H-6′a), 3.70 (1H, dd, *J* = 12.0, 5.4 Hz, H-6′b), 3.27～3.46 (4H, m, H-2′,3′,4′,5′); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 136.6 (C-1), 129.3 (C-2,6), 117.6 (C-3,5), 158.4 (C-4), 64.8 (C-7), 102.4 (C-1′), 74.9 (C-2′), 77.9 (C-3′), 71.3 (C-4′), 78.1 (C-5′), 62.4 (C-6′)。以上数据与文献[10]报道一致, 故鉴定化合物**4**为天麻素。

化合物**5** 无色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 323 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{14}H_{20}O_7$。^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.13 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2, 6), 7.02 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3,5), 4.86 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-1′), 3.70 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-8), 3.29～3.89 (6H, m, H-2′,3′,4′,5′,6′), 2.75 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 134.2 (C-1), 130.8 (C-2,6), 117.7 (C-3,5), 157.6 (C-4), 39.4 (C-7), 64.3 (C-8), 102.5 (C-1′), 74.9 (C-2′), 78.1 (C-3′), 71.3 (C-4′), 77.9 (C-5′), 62.5 (C-6′)。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定化合物**5**为淫羊藿次苷 D_2。

化合物**6** 无色针状结晶, ESI-MS *m*/*z*: 261 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{26}O_2$。^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 3.36 (1H, t, *J* = 3.4 Hz, H-9), 2.23 (1H, ddd, *J* = 12.2, 10.2, 8.2 Hz, H-2), 2.04 (1H, m, H-10a), 1.89 (1H, m, H-5), 1.73 (1H, m, H-10b), 1.61 (1H, td, *J* = 12.2, 5.8 Hz, H-11a), 1.54 (1H, t, *J* = 10.2 Hz, H-3a), 1.52 (1H, m, H-6a), 1.49 (1H, m, H-11b), 1.48 (1H, dd, *J* = 10.2, 8.2 Hz, H-3b), 1.45 (1H, d, *J* = 12.7 Hz, H-12a), 1.43 (1H, d, *J* = 12.7 Hz, H-12b), 1.40 (1H, m, H-7a), 1.38 (1H, m, H-6b), 1.16 (1H, m, H-7b), 1.05 (3H, s, H-14), 1.03 (3H, s, H-13), 0.99 (3H, s, H-15); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 71.5 (C-1), 39.8 (C-2), 35.2 (C-3), 35.8 (C-4), 45.1 (C-5), 21.6 (C-6), 36.7 (C-7), 40.2 (C-8), 72.7 (C-9), 28.8 (C-10), 34.1 (C-11), 43.4 (C-12), 21.3 (C-13), 30.8 (C-14), 27.3 (C-15)。以上数据与文献[12]报

道一致, 故鉴定化合物**6**为丁香烷-1,9*β*-二醇。

化合物**7**　无色针状结晶, ESI-MS *m*/*z*: 261 [M+Na]$^+$, 分子式为$C_{15}H_{26}O_2$。^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 3.72 (1H, dd, *J* = 10.6, 5.9 Hz, H-2), 3.23 (1H, s, H-9), 1.98 (1H, m, H-10a), 1.69 (1H, dd, *J* = 11.8, 5.9 Hz, H-3a), 1.67 (1H, m, H-11a), 1.63 (1H, m, H-10b), 1.54 (1H, d, *J* = 12.2 Hz, H-12a), 1.52 (1H, dd, *J* = 11.8, 9.8 Hz, H-3b), 1.49 (1H, m, H-7a), 1.42 (1H, m, H-5), 1.37 (1H, m, H-6a), 1.35 (1H, m, H-6b), 1.09 (1H, m, H-7b), 1.06 (1H, m, H-11b), 1.03 (3H, s, H-14), 0.92 (3H, s, H-15), 0.88 (1H, d, *J* = 12.2 Hz, H-12b), 0.86 (3H, s, H-13); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 45.3 (C-1), 81.3 (C-2), 48.2 (C-3), 37.6 (C-4), 52.0 (C-5), 21.8 (C-6), 34.5 (C-7), 35.7 (C-8), 75.9 (C-9), 26.8 (C-10), 27.9 (C-11), 36.6 (C-12), 25.7 (C-13), 31.7 (C-14), 29.2 (C-15)。以上数据与文献[12]报道一致, 故鉴定化合物**7**为丁子香烷-2*β*,9*α*-二醇。

化合物**8**　无色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 211 [M+Na]$^+$, 分子式为$C_8H_{12}O_5$。^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 6.78 (1H, dt, *J* =3.4, 1.6 Hz, H-2), 4.35 (1H, m, H-3), 3.98 (1H, dt, *J* =7.1, 5.2 Hz, H-4), 3.73 (3H, s, 7-OCH_3), 3.68 (1H, dd, *J* =7.1, 4.2 Hz, H-5), 2.68 (1H, m, H-6a), 2.29 (1H, m, H-6b); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 130.1 (C-1), 139.1 (C-2), 72.5 (C-3), 68.3 (C-4), 67.2 (C-5), 31.4 (C-6), 168.6 (C-7), 52.3 (7-OCH_3)。以上数据与文献[13]报道一致, 故鉴定化合物**8**为莽草酸甲酯。

化合物**9**　黄色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 191 [M+Na]$^+$, 分子式为$C_8H_8O_4$。^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.39 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 3.81 (3H, s, 7-OCH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 122.5 (C-1), 117.3 (C-2), 146.1 (C-3), 151.6 (C-4), 115.8 (C-5), 123.6 (C-6), 168.8 (C-7), 52.2 (7-OCH_3)。以上数据与文献[14]报道一致, 故鉴定化合物**9**为原儿茶酸甲酯。

化合物**10**　白色无定形粉末, ESI-MS *m*/*z*: 147 [M+Na]$^+$, 分子式为$C_7H_8O_2$。^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.03 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-2,6), 6.72 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-3,5), 4.24 (2H, s, H-7); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C: 131.5 (C-1), 125.9 (C-2,6), 116.4 (C-3,5), 157.6 (C-4), 68.0 (C-7)。以上数据与文献[15]报道一致, 故鉴定化合物**10**为对羟基苯甲醇。

化合物**11**　无色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 161 [M+Na]$^+$, 分子式为$C_8H_{10}O_2$。^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.03 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2, 6), 6.70 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3,5), 3.84 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-8), 2.84 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 130.9 (C-1), 129.6 (C-2, 6), 116.3 (C-3, 5), 157.1 (C-4), 35.1 (C-7), 65.8 (C-8)。以上数据与文献[16]报道一致, 故鉴定化合物**11**为对羟基苯乙醇。

化合物**12**　无色油状物, ESI-MS *m*/*z*: 189 [M+Na]$^+$, 分子式为$C_9H_{10}O_3$。^{1}H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 7.06 (2H, d, *J* = 6.5 Hz, H-2,6), 6.71 (2H, d, *J* = 6.5 Hz, H-3,5), 3.64 (3H, s, 8-OCH_3), 3.51 (2H, s, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 126.3 (C-1), 131.3 (C-2,6), 116.2 (C-3, 5), 157.5 (C-4), 40.8 (C-7), 174.5 (C-8), 52.3 (8-OCH_3)。以上数据与文献[17]报道一致, 故鉴定化合物**12**为对羟基苯乙酸甲酯。

3　生物活性实验

3.1　神经营养活性　将PC12细胞采用1640 + 10% HS + 5% FBS + 100 U·mL^{-1}双抗的培养基培养, 培养箱温度37 ℃、5% CO_2, 直至细胞生长至合适数量时, 制成细胞悬液。离心处理5 min, 弃去上清液, 加入新鲜的培养基5 mL, 将细胞浓度调整为每毫升5×10^{4}个后, 将调整好浓度的细胞悬液均匀加入到48孔板中, 放入细胞培养箱培养24 h。将细胞分为空白对照组、阴性对照组、阳性对照组以及化合物组。细胞放入培养箱中继续培养, 在加入化合物72 h后统计细胞分化比例。

3.2　神经保护活性　将PC12细胞采用DMEM高糖 + 10% FBS + 100 U·mL^{-1}双抗的培养基培养, 培养箱温度37 ℃、5% CO_2, 直至细胞生长至合适数量时, 制成细胞悬液。离心处理5 min, 弃去上清液, 加入新鲜的培养基5 mL, 将细胞浓度调整为每毫升1×10^{5}个后, 将调整好浓度的细胞悬液均匀加入到96孔板中, 放入细胞培养箱培养24 h。将细胞分为空白组、MPP$^+$组以及化合物组。在加入MPP$^+$ 24 h后, 加入MTS, 继续培养2 h, 利用酶标仪于570 nm下测定吸光度值并计算细胞存活率。

作者贡献: 雷铁为本文第一作者, 负责实验、结构鉴定和撰写论文; 赵秋叶和李珍全负责化合物前期的提取与粗分; 殷世焕负责生物实验; 吴兴德负责指导实验过程中遇到的困难和问题; 宋流东和丁林芬负责文章审阅并最终定稿。

利益冲突: 所有作者均声明本文不存在任何利益冲突。

References

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

[2] Lin Q. Medicinal plant resources of *Illicium* L. [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2002, 33: 654-657.

[3] Liu L, Lv XM, Hua T, et al. Two new prenylated C6-C3 compounds from *Illicium micranthum* Dunn [J]. Nat Prod Res, 2020, 34: 425-428.

[4] Sui XJ, Qi MG, Zhang ZX, et al. Menthane-type monoterpenes from branches and leaves of *Illicium micranthum* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2016, 47: 3947-3950.

[5] Dong XJ, Luo SD. Chemical constituents from *Illicium micranthum* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2012, 43: 1041-1044.

[6] Liu TT, Wu HB, Wang WS, et al. A new illicinolide from leaves of *Illicium micranthum* Dunn [J]. Nat Prod Res, 2014, 28: 1598-1601.

[7] Lei T, Liu ZX, Bao Y, et al. Four highly oxygenated sesquiterpenoids from the fruits of *Illicium micranthum* Dunn [J]. Chem Biodivers, 2022, 19: e202200429.

[8] Xia F, Sun J, Jiang Y, et al. Further chemical investigation of leaves of *Aquilaria sinensis* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2013, 38: 3299-3303.

[9] Siebert M, Sommer S, Li SM, et al. Genetic engineering of plant secondary metabolism. Accumulation of 4-hydroxybenzoate glucosides as a result of the expression of the bacterial ubiC gene in tobacco [J]. Plant Physiol, 1996, 112: 811-819.

[10] Lin LC, Chen YF, Tsai TR, et al. Analysis of brain distribution and biliary excretion of a nutrient supplement, gastrodin, in rat [J]. Anal Chim Acta, 2007, 590: 173-179.

[11] Zhou XC, Ma XJ, Ge FX, et al. Two new isoquinoline alkaloids from *Corydalis hendersonii* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2023, 48: 3508-3515.

[12] Heymann H, Tezuka Y, Kikuchi T, et al. Constituents of *sindora sumatrana* MIQ. 1. Isolation and NMR spectral-analysis of sesquiterpene from the dried pods [J]. Chem Pharm Bull, 1994, 42: 138-146.

[13] Ren JJ, Yang X, Wu SL, et al. Studies on chemical constituents and biological activities from seeds of *Litchi chinensis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2022, 53: 7664-7671.

[14] Miyazawa M, Oshima T, Koshio K, et al. Tyrosinase inhibitor from black rice bran [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 6953-6956.

[15] Shen Y, Chen HQ, Wu F, et al. Chemical constituents and their biological activities of *Ludisia discolor* [J]. Guihaia (广西植物), 2024, 44: 2279-2290.

[16] Zhou J, Wang YX, Wei YL, et al. Chemical constituents from *Hericium alpestre* and its α-glucosidase inhibitory activities [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2024, 55: 5407-5417.

[17] Wang Z, Yue MC, Chen SW, et al. Study on secondary metabolites of the endophttic fungus rhizopus oryzae from *Atractylodes macrocephala* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2023, 46: 2733-2740.