箭叶淫羊藿中一个新的二氢黄酮类化合物及其抗肺纤维化活性研究

喻 翔[1,2], 解双双[1,2], 王 茹[1,2], 曾梦楠[1,2], 郑晓珂[1,2], 冯卫生[1,2*]

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046)

摘要: 采用硅胶柱色谱、ODS柱色谱及半制备液相等色谱分离技术, 从箭叶淫羊藿 (*Epimedium sagittatum* Maxim) 70%乙醇提取物的二氯甲烷部位分离得到5个化合物。结合其理化性质及NMR、MS等谱学技术进行结构解析, 确定其结构分别为5,4-dihydroxy-3′-prenyl-7-prenyloxyflavanone (**1**)、5,4′-dihydroxy-7-prenyloxyflavanone (**2**)、5,7,4′-trihydroxy-3′,8-diprenylflavanone (**3**)、癸二酸 (**4**) 和金色酰胺醇酯 (**5**)。其中, 化合物**1**为一个新的二氢黄酮类化合物, 化合物**2**～**5**为首次从淫羊藿属植物中分离得到, 化合物**1**和**3**具有潜在的抗肺纤维化活性。

关键词: 小檗科; 箭叶淫羊藿; 二氢黄酮; 结构鉴定; 抗肺纤维化

中图分类号: R284 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)08-2561-05

A new flavonone from *Epimedium sagittatum* Maxim and its anti-pulmonary fibrosis activity

YU Xiang[1,2], XIE Shuang-shuang[1,2], WANG Ru[1,2], ZENG Meng-nan[1,2], ZHENG Xiao-ke[1,2], FENG Wei-sheng[1,2*]

(*1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province China, Zhengzhou 450046, China*)

Abstract: Five compounds were isolated from the dichloromethane fraction of a 70% ethanol extract of *Epimedium sagittatum* Maxim using a combination of chromatography techniques, including silica gel column chromatography, ODS column chromatography, and semipreparative high-performance liquid chromatography techniques. The structures of these five compounds were identified as 5,4′-dihydroxy-3′-prenyl-7-prenyloxyflavanone (**1**), 5,4′-dihydroxy-7-prenyloxyflavanone (**2**), 5,7,4′-trihydroxy-3′,8-diprenylflavanone (**3**), sebacic acid (**4**), and aurantiamide acetate (**5**), respectively, based on a comprehensive analysis of their physicochemical properties and spectroscopic data, such as NMR and MS. Notably, compound **1** was found to be a new flavonone compound, while compounds **2**−**5** were isolated from the *Epimedium* genus for the first time. Additionally, preliminary investigations indicated that compounds **1** and **3** exhibited potential anti-pulmonary fibrosis activities.

Key words: Berberidaceae; *Epimedium sagittatum* Maxim; flavonone; structure identification; anti-pulmonary fibrosis

箭叶淫羊藿又名三枝九叶草、仙灵脾, 为小檗科 (Berberidaceae) 淫羊藿属多年生草本植物, 始载于《神农本草经》[1], 是我国传统中药材淫羊藿的基原之一, 以干燥叶入药。我国是淫羊藿的地理分布中心, 主要有40个淫羊藿品种, 其中箭叶淫羊藿为淫羊藿属中分布最广的品种, 主要分布在湖北、湖南、江西、河南、安徽等地[2]。箭叶淫羊藿, 性温, 味辛、甘, 归肝肾经, 具有补肾阳, 强筋骨, 祛风湿的功效[3]。现代研究表明,

收稿日期: 2025-03-03; 修回日期: 2025-05-16.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32200319); 河南省博士后科研启动项目 (2021002073); 国家重点研发计划—中医药现代化研究 (2019YFC1708802); 中央引导地方科技发展专项资金 ([2016]149).

*通讯作者 E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0231

箭叶淫羊藿主要含有黄酮类、苯丙素类、萜类、生物碱类等化学成分[4,5], 并具有抗肺纤维化、抗肿瘤、抗骨质疏松、抗炎及神经保护等功效[6-9]。

肺纤维化是由多种原因引起的肺部损伤, 主要病理特征为肺组织过度修复, 成纤维细胞大量增殖、细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 异常沉积[10]。转化生长因子-β1 (TGF-β1), 可促进成纤维细胞向肌成纤维细胞分化, 导致细胞外基质及胶原过度沉积, 从而促进肺纤维化的发生和发展[11]。有研究表明, 箭叶淫羊藿提取物可显著降低肺纤维化小鼠肺组织中TGF-β1水平, 改善细胞外基质的沉积, 具有抗肺纤维化的作用[6]。

为进一步探索箭叶淫羊藿抗肺纤维化的物质基础, 本实验对箭叶淫羊藿二氯甲烷部位的化学成分进行分离纯化, 从中分离得到5个化合物 (图1), 其中化合物**1**为一个新的二氢黄酮类化合物, 化合物**2**～**5**为首次从淫羊藿属植物中分离得到的已知化合物, 分别鉴定为5,4′-dihydroxy-3′-prenyl-7-prenyloxyflavanone (**1**)、5,4′-dihydroxy-7-prenyloxyflavanone (**2**)、5,7,4′-trihydroxy-3′,8-diprenylflavanone (**3**)、癸二酸 (**4**) 和金色酰胺醇酯 (**5**)。采用MTT法对二氢黄酮类化合物**1**～**3**进行了抗肺纤维化活性评价, 结果发现, 化合物**1**和**3**可以明显减轻TGF-β1诱导的人正常肺上皮细胞 (BEAS-2B) 损伤, 显著提高BEAS-2B细胞活力。

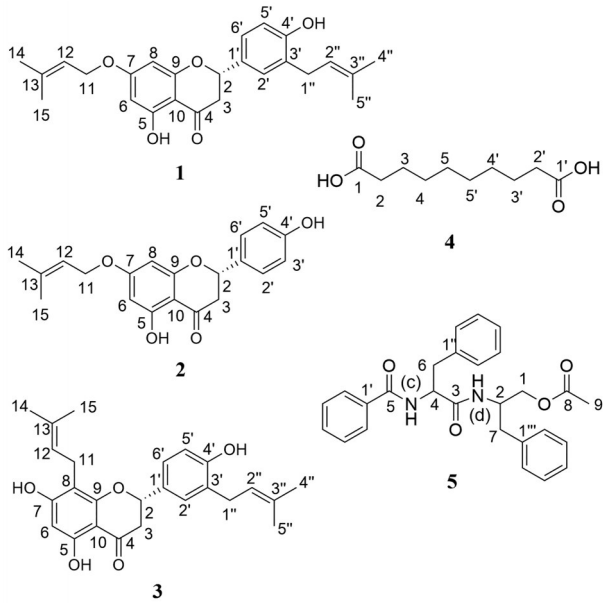


Figure 1 Structures of compounds **1**−**5**

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物**1**为黄色无定形粉末, 在254 nm下有明显紫外吸收。根据高分辨质谱数据 (*m*/*z* 431.182 8 [M+Na]$^+$, 计算值431.182 9), 推测其分子式为$C_{25}H_{28}O_5$, 有12个不饱和度。^{1}H NMR谱中显示, δ_H 7.20 (1H, dd, J = 8.9, 2.3 Hz), δ_H 7.18 (1H, d, J = 2.3 Hz), δ_H 6.84 (1H, d, J = 8.9 Hz) 为苯环上的一组ABX氢信号; δ_H 6.07 (1H, d, J = 2.3 Hz), δ_H 6.05 (1H, d, J = 2.3 Hz) 为苯环上的两个氢质子信号。结合^{13}C NMR谱和DEPT谱可知, 有10个季碳信号 (包括9个烯碳和1个羰基碳), 8个次甲基信号 (包括7个烯碳和1个氧化次甲基碳), 3个亚甲基信号 (包括1个氧化亚甲基碳) 和4个甲基信号。根据次甲基信号δ_C 79.3, 亚甲基信号δ_C 43.3和羰基信号δ_C 196.3, 推测化合物**1**具有二氢黄酮类骨架[12]。

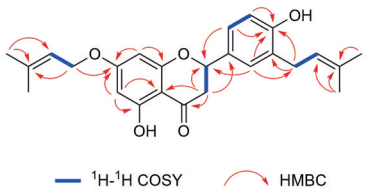


Figure 2 Key ^{1}H-^{1}H COSY and HMBC correlations of compound **1**

另外, 根据烯烃氢信号δ_H 5.44 (1H, t, J = 6.7 Hz)、δ_H 5.32 (1H, m), 亚甲基氢信号δ_H 4.51 (2H, d, J = 6.7 Hz) 以及δ_H 3.38 (2H, d, J = 7.2 Hz), 甲基氢信号δ_H 1.79 (3H, s)、δ_H 1.78 (3H, s)、δ_H 1.78 (3H, s)、δ_H 1.72 (3H, s), 推测化合物**1**含有两个异戊烯基取代片段。结合HMBC谱中δ_H 1.78 (δ_C 25.9) 与δ_C 118.7 (C-12)、δ_C 139.3 (C-13) 相关, δ_H 1.79 (δ_C 25.9) 与δ_C 121.4 (C-2″)、δ_C 135.2 (C-3″) 相关, 以及^{1}H-^{1}H COSY相关, 可证实以上推测。然后, 根据HMBC谱中δ_H 4.51 (H_2-11) 与δ_C 167.5 (C-7)、δ_C 139.3 (C-13) 相关以及δ_H 3.38 (H_2-1″) 与δ_C 128.3 (C-2′)、δ_C 155.0 (C-4′) 相关, 可确定两个异戊烯基分别连接在化合物**1**的7-*O*-和C-3′位, 其主要^{1}H-^{1}H COSY和HMBC相关关系见图2。

根据文献[13]报道, 当二氢黄酮类化合物在280～290 nm附近为负Cotton效应, 在330 nm附近为正Cotton效应时, C-2位为*S*构型。化合物**1**的electronic circular dichroism (ECD) 谱 (图3) 在291 nm处显示负Cotton效应, 在330 nm处显示正Cotton效应, 因此化合物**1**的C-2位为*S*构型。

综上所述, 化合物**1**经Scifinder检索为一个新化合物, 命名为5,4′-dihydroxy-3′-prenyl-7-prenyloxyflavanone, 其碳氢数据归属见表1。

2 抗肺纤维化活性

采用MTT法测试了化合物**1**～**3**对TGF-β1诱导

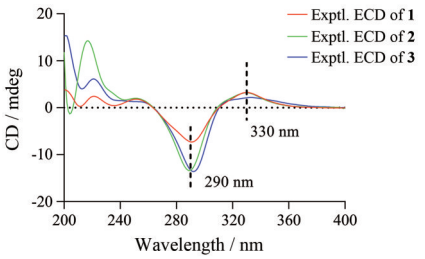


Figure 3　Experimental ECD spectra of compounds **1**–**3**

Table 1　^{1}H NMR and ^{13}C NMR data of compound **1** in $CDCl_3$ (δ in ppm, J in Hz)

No.	δ_H	δ_C	No.	δ_H	δ_C
2	5.32, dd (13.1, 2.9)	79.3	14	1.78, s	25.9
3	2.77, dd (17.2, 2.9)	43.3	15	1.72, s	18.3
	3.10, dd (17.2, 13.1)		1′		130.5
4		196.3	2′	7.18, d (2.3)	128.3
5		164.1	3′		127.6
6	6.07, d (2.3)	95.8	4′		155.0
7		167.5	5′	6.84, d (8.9)	116.0
8	6.05, d (2.3)	94.9	6′	7.20, dd (8.9, 2.3)	125.8
9		163.0	1″	3.38, d (7.2)	29.8
10		103.2	2″	5.32, m	121.4
11	4.51, d (6.7)	65.4	3″		135.2
12	5.44, t (6.7)	118.7	4″	1.79, s	25.9
13		139.3	5″	1.78, s	18.0

BEAS-2B细胞损伤的影响。结果显示, 化合物**1**～**3**在10 μmol·L^{-1}剂量下能够明显改善TGF-β1诱导的BEAS-2B细胞损伤, 显著提高BEAS-2B细胞活力, 数据详见表2, 提示化合物**1**和化合物**3**具有潜在的抗肺纤维化活性。

Table 2　Effects of compounds **1**–**3** on TGF-β1-induced injury of BEAS-2B cells. TGF: Transforming growth factor. n = 4, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* CON; $^{**}P < 0.01$ *vs* TGF-β1

Group	Dose	Cell viability
CON	–	1.000 ± 0.091
TGF-β1	1 ng·mL^{-1}	0.863 ± 0.034$^{\#\#}$
1	10 μmol·L^{-1}	1.042 ± 0.022**
2	10 μmol·L^{-1}	0.946 ± 0.035
3	10 μmol·L^{-1}	1.086 ± 0.085**

实验部分

仪器设备　Bruker maxis HD型飞行时间质谱、AVANCE III 500型核磁共振仪 (德国布鲁克公司); Nicolet IS 10傅里叶变换红外光谱仪、EVO300紫外分光光度计型紫外检测器 (美国Thermo Scientific公司); Autopol IV全自动旋光仪 (美国鲁道夫公司); Chirascan qCD光谱仪 (英国应用光物理公司); ZF-90型暗箱式紫外投射仪 (上海宝山顾村电光仪器厂); DFZ-60508型电热鼓风干燥箱 (上海一恒科学仪器有限公司); N-1300型旋转蒸发仪、CA-1116A型冷却水循环装置、A-1000S型水流抽气机 (上海埃朗仪器有限公司); Shimadzu LC 40型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); COSMOSIL 5C18-MS-Ⅱ色谱柱 (10 mm × 250 mm, 5 μm; 日本Tesque公司); AB204-N万分之一精密分析天平 (瑞士Mettler-Toledo公司); BEAS-2B (中国科学院上海细胞库); 3111型二氧化碳培养箱、Multiskan MK3酶标仪 (美国Thermo Fisher公司); ECLPSE TS100倒置显微镜 (日本Nikon公司); Centrifuge-5804R高速离心机 (德国Eppendorf公司); m BCD-206TAS超低温冰箱 (中国海尔公司); Advantage A10超纯水仪 (德国Sartorius公司); HVA-85高压灭菌锅 (日本Hirayama公司) 以及90-3型双向定时恒温磁力搅拌器 (上海楚定分析仪器有限公司)。

试剂和材料　色谱纯甲醇、乙腈 (天津市四友精细化工有限公司), 分析纯石油醚、二氯甲烷、正丁醇、乙酸乙酯、甲醇 (天津富宇精细化工有限公司); 柱色谱填料C_{18} ODS (50 μm, 日本YMC有限公司); 柱色谱硅胶 (100～200和200～300目, 青岛海洋化工厂); 氘代氯仿 (美国Cambridge Isotope Laboratories公司); 氘代甲醇 (上海麦克林生化科技有限公司); 胎牛血清 (FBS, 杭州四季青公司); DMEM高糖培养基 (美国Gibco Invitrogen公司); 氨苄青霉素、链霉素 (德国Sigma公司); TGF-β1 (美国PeproTech公司); 噻唑蓝 (MTT, 北京索莱宝科技有限公司) 以及二甲基亚砜 (DMSO, 上海麦克林生物科技有限公司)。

箭叶淫羊藿的地上部分于2020年9月采集自河南省驻马店市丰惠淫羊藿GAP基地。经河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为小檗科淫羊藿属箭叶淫羊藿的干燥叶, 植物标本 (No.20200960) 保存于河南中医药大学中药化学提取分离实验室。

1　提取与分离

将干燥箭叶淫羊藿地上部分 (80 kg) 粉碎, 用70%乙醇回流提取4次, 减压回收溶剂得植物总浸膏 (6.5 kg)。然后, 将总浸膏用3倍体积的蒸馏水混悬, 混悬液依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 得到二氯甲烷部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位。

二氯甲烷部位 (2.1 kg) 经正相硅胶柱色谱分离, 以石油醚–乙酸乙酯 (50∶1～0∶1) 进行梯度洗脱, 得到8个组分Fr. 1～8。Fr. 5 (29.4 g) 经正相硅胶柱色谱用石油醚–乙酸乙酯 (50∶1～0∶1) 梯度洗脱, 分离得到15个组分Fr. 5-1～5-15。然后Fr. 5-9 (1.4 g) 经ODS反相硅胶柱色谱用甲醇–水 (50∶50～100∶0) 进行梯度洗脱, 分离得到7个组分Fr. 5-9-1～5-9-7。Fr. 5-9-4 (105.6 mg)

运用半制备型高效液相 (甲醇−水, 90∶10) 等度洗脱, 分离纯化得到化合物**1** (16.3 mg, t_R = 20.2 min)。

Fr. 6 (13.7 g) 经正相硅胶柱色谱用石油醚−乙酸乙酯 (50∶1～0∶1) 进行梯度洗脱, 分离得到16个组分 Fr. 6-1～6-16。Fr. 6-12 (1.0 g) 经ODS反相硅胶柱色谱用甲醇−水 (50∶50～100∶0) 进行梯度洗脱, 分离得到6个组分 Fr. 6-12-1～6-12-6。Fr. 6-12-1 (31.8 mg) 运用半制备型高效液相 (乙腈−水, 62∶38) 等度洗脱, 分离纯化得到化合物**2** (12.2 mg, t_R = 24.7 min)。Fr. 6-14 (2.3 g) 经ODS反相硅胶柱色谱用甲醇−水 (60∶40～100∶0) 进行梯度洗脱, 分离得到8个组分 Fr. 6-14-1～6-14-8。Fr. 6-14-3 (358.7 mg) 运用半制备型高效液相 (乙腈−水 62∶38) 等度洗脱, 分离纯化得到化合物**3** (3.2 mg, t_R = 30.0 min)。Fr. 6-15 (1.8 g) 经ODS反相硅胶柱色谱用甲醇−水 (45∶55～100∶0) 进行梯度洗脱, 分离得到14个组分 Fr. 6-15-1～6-15-14。Fr. 6-15-7 (45.2 mg) 运用半制备型高效液相 (乙腈−水, 71∶29) 等度洗脱, 分离纯化得到化合物**4** (4.1 mg, t_R = 24.1 min)。

Fr. 7 (100.7 g) 依次经正相硅胶柱色谱、ODS反相硅胶柱色谱分离得到Fr. 7-17-11。Fr. 7-17-11 (450.8 mg) 经ODS反相硅胶柱色谱用甲醇−水 (50∶50～100∶0) 进行梯度洗脱, 分离得到8个组分 Fr. 7-17-11-1～7-17-11-8。Fr. 7-17-11-2 (50.0 mg) 运用半制备型高效液相 (乙腈−水, 62∶38) 等度洗脱, 分离纯化得到化合物**5** (2.0 mg, t_R = 38.3 min)。

2 结构鉴定

化合物**1**为黄色无定形粉末, 在254 nm下有明显紫外吸收。$[\alpha]_D^{20}$: −6.1 (*c* 0.11, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 431.182 8 $[M+Na]^+$ (计算值 431.182 9), 分子式为 $C_{25}H_{28}O_5$, 有12个不饱和度。UV (MeOH) λ_{max} (log ε): 201 (4.58), 288 (4.23) nm; IR (ν_{max}): 2 924, 1 642, 1 574, 1 500, 1 443, 1 374, 1 298, 1 159, 1 090, 1 019, 983, 829 cm^{-1}; ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 数据见表1。

化合物**2**为黄色无定形粉末。$[\alpha]_D^{20}$: −6.0 (*c* 0.19, MeOH), ESI-MS *m*/*z*: 363.12 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{20}O_5$。^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.33 (d, *J* = 8.4 Hz, H-2′, 6′), 6.88 (d, *J* = 8.4 Hz, H-3′, 5′), 6.07 (d, *J* = 2.3 Hz, H-8), 6.04 (d, *J* = 2.3 Hz, H-6), 5.44 (m, H-12), 5.35 (dd, *J* = 13.0, 2.9 Hz, H-2), 4.51 (d, *J* = 6.7 Hz, H-11), 3.08 (dd, *J* = 17.1, 13.0 Hz, H-3a), 2.78 (dd, *J* = 17.1, 2.9 Hz, H-3b), 1.79 (s, H-14), 1.72 (s, H-15); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 79.1 (C-2), 43.3 (C-3), 196.2 (C-4), 164.2 (C-5), 95.0 (C-6), 163.0 (C-7), 95.9 (C-8), 167.5 (C-9), 103.2 (C-10), 65.5 (C-11), 118.7 (C-12), 139.4 (C-13), 25.9 (C-14), 18.4 (C-15), 130.6 (C-1′), 128.1 (C-2′, C-6′), 115.8 (C-3′, C-5′)。以上数据与文献[14]报道基本一致, 故鉴定化合物**2**为5,4′-dihydroxy-7-prenyloxyflavanone。通过与化合物**1**的CD谱图对比 (图3), 判定化合物**2**绝对构型为2*S*。

化合物**3**为黄色无定形粉末。$[\alpha]_D^{20}$: −12.8 (*c* 0.10, MeOH), ESI-MS *m*/*z*: 431.18 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{25}H_{28}O_5$。^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.19 (overlap, H-2′), 7.19 (overlap, H-6′), 6.84 (d, *J* = 8.1 Hz, H-5′), 6.02 (s, H-6), 5.33 (m, H-2″), 5.31 (m, H-2), 5.21 (m, H-12), 3.38 (d, *J* = 6.9 Hz, H-1″), 3.31 (d, *J* = 6.8 Hz, H-11), 3.05 (dd, *J* = 17.0, 12.9 Hz, H-3a), 2.79 (dd, *J* = 17.0, 3.0 Hz, H-3b), 1.79 (s, H-4″, 5″), 1.73 (s, H-14, 15); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 79.0 (C-2), 43.3 (C-3), 196.7 (C-4), 162.4 (C-5), 97.0 (C-6), 163.8 (C-7), 106.2 (C-8), 159.9 (C-9), 103.4 (C-10), 22.0 (C-11), 121.4 (C-12), 135.1 (C-13), 25.9 (C-14), 18.0 (C-15), 127.3 (C-1′), 128.1 (C-2′), 131.0 (C-3′), 154.8 (C-4′), 116.0 (C-5′), 125.6 (C-6′), 30.0 (C-1″), 121.7 (C-2″), 135.5 (C-3″), 26.0 (C-4″), 18.1 (C-5″)。以上数据与文献[15]报道基本一致, 故鉴定化合物**3**为5,7,4′-trihydroxy-3′,8-diprenylflavanone。化合物**3**的ECD曲线与**1**相似 (图3), 因此化合物**3**的C-2位绝对构型为*S*。

化合物**4**为白色粉末。ESI-MS *m*/*z*: 225.11 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{10}H_{18}O_4$。^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ_H: 2.28 (m, H-2, H-2′), 1.60 (m, H-3, H-3′), 1.34 (m, H-4, H-4′, H-5, H-5′); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ_C: 177.6 (C-1, C-1′), 34.9 (C-2, C-2′), 30.1 (C-3, C-3′), 26.0 (C-4, C-4′, C-5, C-5′)。上述数据与文献[16]对照基本一致, 故鉴定化合物**4**为癸二酸 (sebacic acid)。

化合物**5**为无色针状结晶。ESI-MS *m*/*z*: 467.19 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{27}H_{28}N_2O_4$。^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 7.44～7.71 (m, H-2′, H-3′, H-4′, H-5′, H-6′), 7.26 (m, H-2″, H-3″, H-4″, H-5″, H-6″), 7.07～7.15 (m, H-2‴, H-3‴, H-4‴, H-5‴, H-6‴), 6.74 (d, *J* = 7.6 Hz, H-c), 5.92 (d, *J* = 8.6 Hz, H-d), 4.76 (m, H-4), 4.34 (m, H-2), 3.93 (dd, *J* = 11.4, 4.9 Hz, H-1a), 3.81 (dd, *J* = 11.4, 4.2 Hz, H-1b), 3.22 (dd, *J* = 13.7, 5.9 Hz, H-6a), 3.05 (dd, *J* = 13.7, 8.5 Hz, H-6b), 2.75 (t, *J* = 7.0 Hz, H-7), 2.03 (s, H-9); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 64.7 (C-1), 49.6 (C-2), 170.4 (C-3), 55.1 (C-4), 167.2 (C-5), 38.6 (C-6), 37.6 (C-7), 170.9 (C-8), 21.0 (C-9), 133.8 (C-1′), 128.9 (C-2′, C-6′), 127.3 (C-3′, C-5′), 132.1 (C-4′), 136.8 (C-1″), 129.4 (C-2″, C-6″), 128.8 (C-3″, C-5″), 127.2 (C-4″), 136.7 (C-1‴), 129.3 (C-2‴, C-6‴), 128.7 (C-3‴,

C-5‴), 126.9 (C-4‴)。上述数据与文献[17]对照基本一致, 故鉴定化合物**5**为金色酰胺醇酯 (aurantiamide acetate)。

3　活性研究

3.1　细胞培养与处理　取冻存的BEAS-2B细胞于37 ℃水浴锅融化至冰水共存状态, 立即以1 000 r·min^{-1}的条件离心5 min, 弃上清后将细胞转入含有10% FBS的DMEM高糖培养基的培养皿中 (青、链霉素均为100 ku·L^{-1}), 于含5% CO_2的37 ℃恒温培养箱培养, 待细胞长至布满皿80%～90%进行传代。每24 h更换新鲜培养基。然后, 将BEAS-2B细胞置于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养至对数生长期, 按照细胞密度每毫升2.0×10^{4}个, 每孔200 μL接种于96孔板中。培养24 h后, 分为正常对照组 (CON)、模型组 (1 ng·mL^{-1} TGF-β1)及给药组 (10 μmol·L^{-1}+1 ng·mL^{-1} TGF-β1), 再培养24 h。

3.2　MTT法测定BEAS-2B细胞的细胞活力　细胞处理后, 向每孔中加入20 μL MTT溶液 (5 mg·mL^{-1}) 并继续培养4 h。然后小心吸出培养液, 每孔加入150 μL DMSO溶解蓝紫色晶体。用酶标仪在490 nm处测量每个孔的吸光度值 (OD), 并计算细胞活力。

3.3　统计学分析　实验数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用SPSS 26.0软件进行统计学分析。组间比较采用单因素方差分析。$P < 0.01$表示具有极显著性差异。

作者贡献: 喻翔负责化合物的分离、鉴定和文章撰写; 解双双对实验中遇到的问题给予指导并负责相关稿件的修改; 曾梦楠和王茹负责活性筛选; 郑晓珂教授和冯卫生教授负责实验设计、指导及最终定稿等工作。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

[1] Cui XP, Yan BB, Wan XF, et al. Research progress and prospect of pultivation of medicinal plants of Epimedii Folium [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2022, 24: 705-714.

[2] Xu YQ, Li RQ, Zhang HY, et al. Distribution of *Epimedium sagittatum* and its research progress on quality characteristics [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2020, 51: 6119-6132.

[3] Chinese Pharmacopeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 340.

[4] Shen BM, Tan ZM, Shen AR, et al. The review of *Epimedium sagittatum* studies [J]. Hunan For Sci Technol (湖南林业科技), 2020, 47: 96-109.

[5] Wei JJ, Zhang JK, Li M, et al. A new flavonoid glycoside from *Epimedium sagittatum* [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2023, 58: 180-185.

[6] Wang R, Hou FY, Zeng MN, et al. Aqueous extract of *Epimedium sagittatum* mitigates pulmonary fibrosis in mice [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2023, 48: 5612-5622.

[7] Xie SS, Yu X, Zhang JK, et al. Epimesatines P-S: four undescribed flavonoids from *Epimedium sagittatum* Maxim. and their cytotoxicity activities [J]. Molecules, 2024, 29: 4711.

[8] Qian H, Wu D, Li C, et al. A systematic review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity of *Epimedium koreanum* Nakai [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 318: 116957.

[9] Li X, Wang Y, Chen Y, et al. Icariside II alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting lung epithelial inflammatory and immune responses mediated by neutrophil extracellular traps [J]. Life Sci, 2024, 346: 122648.

[10] Yin ZF, Wei YL, Wang X, et al. Buyang Huanwu Tang inhibits cellular epithelial-to-mesenchymal transition by inhibiting TGF-β1 activation of PI3K/Akt signaling pathway in pulmonary fibrosis model *in vitro* [J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20: 13.

[11] Li SL, Fu CL, Liu C. Regulatory effects and mechanisms of curcumin on pulmonary fibrosis in diabetic mice [J]. J Hubei Univ Sci Technol (湖北科技学院学报), 2025, 39: 6-9.

[12] Zhang NL, Huang RM, Zhu YH, et al. A new isoprenylated flavanone from *Cajanus cajan* [J]. Chem Nat Compd, 2014, 50: 438-439.

[13] Gaffield W. Circular dichroism, optical rotatory dispersion and absolute configuration of flavanones, 3-hydroxyflavanones and their glycosides: determination of aglycone chirality in flavanone glycosides [J]. Tetrahedron, 1970, 26: 4093-4108.

[14] Bohlmann F, Gören NA. Three prenylated flavanoids from *Helichrysum athrixiifolium* [J]. Phytochemistry, 1984, 23: 1338-1339.

[15] Wang M, Li J, Liu W. Two flavanones from the root bark of *Lespedeza davidii* [J]. Phytochemistry, 1987, 26: 1218-1219.

[16] Kim DH, Yang MC, Lee KH, et al. Phenolic constituents of *Althaea rosea* Canival [J]. Korean J Pharmacogn, 2007, 38: 222-226.

[17] Wang ZT, Lu YH, Ye WN, et al. A dipeptide isolated from *Aster tataricus* L.f [J]. J Chin Pharm Sci, 1999, 8: 171-172.