

Phytochemicals from *Botrychium ternatum* with the Anti-inflammatory Activity in LPS-induced RAW 264.7 Macrophages

Ruoxi ZHAO¹, Bangcheng GU¹, Mengmeng FU¹, Ruiqing WU¹,
Huankai YAO¹, Yan LI^{1,*} & Suhua QI^{2,*}

¹ Department of Microbial and Biochemical Pharmacy, School of Pharmacy & Jiangsu Key Laboratory of New Drug Research and Clinical Pharmacy, Xuzhou Medical University, Xuzhou Jiangsu 221004, China

² School of Medical Technology & Xuzhou Key Laboratory of Laboratory Diagnostics, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221004, China

SUMMARY. To discover anti-inflammatory drugs, we have investigated phytochemicals in *Botrychium ternatum* and evaluated their anti-inflammatory effects using RAW 246.7 macrophages induced by LPS. Phytochemical investigation has resulted in the identification of 18 compounds including two steroids, one bibenzyl derivative and 15 flavonoids. And six compounds were first found in the genus *Botrychium* as well as one compound was obtained in *B. ternatum* for the first time. Next evaluations have revealed except compounds 1 and 2, all the other compounds showed anti-inflammatory activity at 10 μ M via inhibiting pro-inflammatory cytokines, enzymes and mediators. Further explorations using compounds 3, 11 and 12 have unraveled the anti-inflammatory effects of these compounds were closely associated with the inactivation of both NF- κ B and MAPK signaling pathways. These results could provide evidences for the discovery of anti-inflammatory agents from nature and application of *B. ternatum* in practice.

RESUMEN. Para descubrir fármacos antiinflamatorios, investigamos fitoquímicos en *Botrychium ternatum* y evaluamos sus efectos antiinflamatorios utilizando macrófagos RAW 246.7 inducidos por LPS. La investigación fitoquímica ha dado como resultado la identificación de 18 compuestos, incluidos dos esteroides, un derivado bibencilo y 15 flavonoides. Y se encontraron por primera vez seis compuestos en el género *Botrychium* y un compuesto se obtuvo por primera vez en *B. ternatum*. Las evaluaciones siguientes han revelado que, excepto los compuestos 1 y 2, todos los demás compuestos mostraron actividad antiinflamatoria a 10 μ M mediante la inhibición de citoquinas, enzimas y mediadores proinflamatorios. Exploraciones adicionales utilizando los compuestos 3, 11 y 12 han revelado que los efectos antiinflamatorios de estos compuestos estaban estrechamente asociados con la inactivación de las vías de señalización de NF- κ B y MAPK. Estos resultados podrían proporcionar evidencia para el descubrimiento de agentes antiinflamatorios naturales y la aplicación de *B. ternatum* en la práctica.

KEY WORDS: *Botrychium ternatum*, inflammation, MAPK, NF- κ B, phytochemicals, RAW 264.7 macrophages.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: liyan@xzhmu.edu.cn (Y. LI); suhuaqi@xzhmu.edu.cn (S. QI)