

糙叶五加茎化学成分研究

李小军^{1,2}, 金官佑², 吴贤哲², 金伦喆^{2*}, 刘向前^{1*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

2. 圆光大学药学院, 韩国 益山 54538

摘要: 目的 基于脂多糖(LPS)诱导的巨噬细胞 RAW264.7 和小胶质细胞 BV2 为生物活性导向模型研究糙叶五加 *Acanthopanax henryi* 茎的化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、制备薄层及重结晶等方法进行分离纯化, 利用波谱分析结合理化性质鉴定化合物的结构。结果 从糙叶五加茎甲醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中分离得到 18 个化合物, 分别鉴定为对羟基苯甲酸(1)、反式对羟基肉桂酸(2)、反式咖啡酸甲酯(3)、咖啡酸(4)、反式松柏醛(5)、丁香醛(6)、香草醛(7)、6-甲氧基-7-羟基香豆素(8)、反式芥子醛(9)、十一烷二酸单甲酯(10)、(-)-芝麻素(11)、3-*O*-咖啡酰奎宁酸(12)、5-*O*-咖啡酰奎宁酸(13)、1,3-双咖啡酰奎宁酸(14)、1,4-双咖啡酰奎宁酸(15)、1,5-双咖啡酰奎宁酸(16)、豆甾醇(17)、 β -谷甾醇(18)。结论 化合物 10 为首次从五加科植物中分离得到; 除化合物 12、14、17、18 外, 其他化合物均为首次从该植物中分离得到。

关键词: 糙叶五加; 反式松柏醛; 丁香醛; 反式芥子醛; 咖啡酰奎宁酸; 十一烷二酸单甲酯

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)05-1055-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.05.005

Chemical constituents from stems of *Acanthopanax henryi*

LI Xiao-jun^{1,2}, KIM Kwan-woo², OH Hyun-cheol², KIM Youn-chul², LIU Xiang-qian¹

1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

2. School of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 54538, Korea

Abstract: Objective To study the chemical constituents from stems of *Acanthopanax henryi* based on LPS-induced macrophages RAW264.7 and microglia BV2 as the bioactivity guided model. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, as well as Prep-TLC and recrystallization methods. Their structures were identified on the basis of their physicochemical properties and spectroscopic data. **Results** Eighteen compounds were obtained from *A. henryi* and their chemical structures were identified as *p*-hydroxybenzoic acid (1), *trans-p*-hydroxycinnamic acid (2), (*E*)-caffeic acid methyl ester (3), caffeic acid (4), *trans*-coniferyl aldehyde (5), syringaldehyde (6), vanillin (7), 6-methoxy-7-hydroxycoumarin (8), *trans*-sinapaldehyde (9), undecane-1,11-dioic acid monomethyl ester (10), (-)-sesamin (11), 3-*O*-caffeoyl-quinic acid (12), 5-*O*-caffeoyl-quinic acid (13), 1,3-di-*O*-caffeoyl-quinic acid (14), 1,4-di-*O*-caffeoyl-quinic acid (15), 1,5-di-*O*-caffeoyl-quinic acid (16), stigmasterol (17), and β -sitosterol (18), respectively. **Conclusion** To the best of our knowledge, compound 10 was isolated from Araliaceae for the first time. Except compounds 12, 14, 17, and 18, all of other compounds were obtained from this species for the first time.

Key words: *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms; *trans*-coniferyl aldehyde; syringaldehyde; *trans*-sinapaldehyde; caffeoyl-quinic acid; undecane-1,11-dioic acid monomethyl ester

糙叶五加 *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms 为中国特有的五加科五加属植物, 广泛分布于湖南、甘肃、四川等地。湖南省中药材地方标准收载的“五加皮”就是该植物的根皮, 具有祛风湿、活血化瘀、壮筋骨等功效, 主要用于治疗风湿痹痛、拘挛麻木、

筋骨痿软、水肿、跌打损伤、疝气腹痛等^[1]。然而, 从资源可持续、合理利用的角度考虑, 根皮入药为不可再生; 而其茎叶却为可再生资源。为了探究糙叶五加的地上部位叶和茎是否可以替代其根皮入药, 本课题组前期对其叶进行了系统研究并作了相

收稿日期: 2018-10-02

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(11JJ2042); 湖南中医药大学生物工程重点学科资助(校行科学[2018]3号)

作者简介: 李小军(1991—), 男, 在读博士研究生, 主要从事生药及天然药物活性成分研究。E-mail: 598237392@qq.com

*通信作者 刘向前(1967—), 男, 教授。E-mail: lxq0001cn@163.com

金伦喆, 男, 教授。E-mail: yckim@wku.ac.kr

应报道^[2-5]。目前为止,对其茎的研究尚无任何报道。基于此,本实验首次对糙叶五加茎进行了物质基础研究,对糙叶五加茎甲醇提取物依次进行了石油醚(60~90℃)、醋酸乙酯、正丁醇萃取,基于脂多糖(LPS)诱导的巨噬细胞 RAW264.7 和小胶质细胞 BV2 模型分别进行了抗炎活性和抗神经炎活性筛选,从活性较好的醋酸乙酯萃取部分中分离鉴定出 18 个化合物,分别为对羟基苯甲酸(*p*-hydroxyl-benzoic acid, **1**)、反式对羟基肉桂酸(*trans-p*-hydroxyl-cinnamic acid, **2**)、反式咖啡酸甲酯[(*E*)-caffeic acid methyl ester, **3**]、咖啡酸(caffeic acid, **4**)、反式松柏醛(*trans*-coniferyl aldehyde, **5**)、丁香醛(syringaldehyde, **6**)、香草醛(vanillin, **7**)、6-甲氧基-7-羟基香豆素(6-methoxy-7-hydroxycoumarin, **8**)、反式芥子醛(*trans*-sinapaldehyde, **9**)、十一烷二酸单甲酯(undecane-1,11-dioic acid monomethyl ester, **10**)、(-)-芝麻素[(-)-sesamin, **11**]、3-*O*-咖啡酰奎宁酸(3-*O*-caffeoyl-quinic acid, **12**)、5-*O*-咖啡酰奎宁酸(5-*O*-caffeoyl-quinic acid, **13**)、1,3-双咖啡酰奎宁酸(1,3-di-*O*-caffeoyl-quinic acid, **14**)、1,4-双咖啡酰奎宁酸(1,4-di-*O*-caffeoyl-quinic acid, **15**)、1,5-双咖啡酰奎宁酸(1,5-di-*O*-caffeoyl-quinic acid, **16**)、豆甾醇(stigmasterol, **17**)、 β -谷甾醇(β -sitosterol, **18**)。其中,化合物 **10** 为首次从五加科植物中分离得到;除化合物 **12**、**14**、**17**、**18** 外,其他化合物均为首次从糙叶五加中分离得到。

1 仪器与材料

NMR 波谱(1D 和 2D)测试采用 JEOL JNM ECP-400 核磁共振仪(日本东京公司);ESI-MS 测试采用 Q-TOF micro LC-MS/MS 质谱仪(美国 Waters 公司);Jasco p-2000 数字旋光仪(日本东京);高相液相色谱仪为 YL9100 HPLC 系统(韩国英麟公司);正相和反相 TLC 采用 Kieselgel 60 F₂₅₄ 和 RP₁₈ F_{254s}(德国默克公司);常规柱色谱硅胶(Kieselgel 60, 70~230、230~400 目,德国默克公司);反相柱色谱材料 YMC-C₁₈(德国默克公司)。

Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自 Gibco BRL Co. (Grand Island, NY, USA); LPS、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)、Griess 试剂购自美国 Sigma-Aldrich 公司(St. Louis, MO);阳性对照紫柳因(butein)为韩国圆光大学药学院生药及天然产物

研究室自制(HPLC 检测质量分数 $\geq 98.5\%$);小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 和小鼠小胶质细胞 BV2 来源于韩国圆光大学 Park Hyun 教授实验室。

本实验样品(二年生的栽培品)于 2016 年 8 月份采自湖南省新化,经湖南中医药大学药学院刘向前教授鉴定为五加科五加属植物糙叶五加 *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms 的茎,标本(AH201608-03)保存于湖南省重点实验室中药新药研究与开发实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

干燥的糙叶五加茎 6 kg,粉碎至粗粉,以纯甲醇回流提取 3 次,合并提取液,浓缩后得总浸膏。总浸膏加入适量蒸馏水分散后依次用石油醚(60~90℃)、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取。回收溶剂,得石油醚萃取物(65 g)、醋酸乙酯萃取物(33 g)、正丁醇萃取物(30 g)。

分别以 LPS 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 和小胶质细胞 BV2 作为抗炎活性筛选模型,对上述 3 个萃取部分进行活性筛选。取抗炎活性较好的部位醋酸乙酯浸膏(30 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱,以氯仿-甲醇(1:1)洗脱,得 4 个组分 Fr. E1~E4。Fr. E2(14.55 g)再经 Sephadex LH-20 柱色谱,以氯仿-甲醇(4:1)洗脱,得 6 个亚组分 Fr. E2.1~E2.6。亚组分 Fr. E2.3(2.60 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱,以氯仿-甲醇(9:1)洗脱,得 6 个亚组分 Fr. E2.3.1~E2.3.6。Fr. E2.3.4(310 mg)经硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(8:1 \rightarrow 6:1)梯度洗脱,再经制备薄层色谱(正己烷-醋酸乙酯 1:2)纯化,得化合物 **1**(9 mg)和 **2**(2 mg)。Fr. E2.3.3(510 mg)经硅胶柱色谱分离,以正己烷-醋酸乙酯(5:1 \rightarrow 2.5:1)梯度洗脱,再经甲醇重结晶,得化合物 **3**(16 mg)。Fr. E2.3.5(470 mg)经反相 C₁₈柱色谱分离,以甲醇-水(35%~100%甲醇)梯度洗脱,再经甲醇重结晶,得化合物 **4**(14 mg)和 **12**(15 mg)。亚组分 Fr. E2.2(2.60 g)经硅胶柱色谱,以正己烷-丙酮(5:1 \rightarrow 1:1)梯度洗脱,得 11 个亚组分 Fr. E2.2.1~E2.2.11。Fr. E2.2.6(86 mg)经制备薄层纯化(氯仿-甲醇 20:1)得化合物 **6**(6.5 mg);Fr. E2.2.4(30 mg)经制备薄层纯化(氯仿-甲醇 50:1)得化合物 **7**(5 mg);Fr. E2.2.8(20 mg)经制备薄层纯化(氯仿-甲醇 20:1)得化合物 **8**(3 mg);Fr. E2.2.5(67 mg)和 Fr. E2.2.7(52 mg)分别经制备薄层纯化(氯

仿-甲醇 20:1) 得化合物 **5** (5 mg)、**9** (3 mg)、**10** (2 mg); Fr. E2.2.9 (136 mg) 经甲醇重结晶得化合物 **11** (12 mg)。亚组分 Fr. E2.5 (1.50 g) 先经反相 C₁₈ 柱色谱, 以甲醇-水 (25%~100% 甲醇) 梯度洗脱, 再经甲醇重结晶脱色素处理得化合物 **13** (17 mg)。亚组分 Fr. E2.4 (1.0 g) 先经硅胶柱色谱分离, 以氯仿-甲醇-水 (4:1:0.1→1:1:0.2) 梯度洗脱, 得 7 个亚组分 Fr. E2.4.1~E2.4.7。Fr. E2.4.3 (30 mg) 和 Fr. E2.4.4 (40 mg) 分别再经半制备 HPLC (甲醇-水) 分离纯化得化合物 **14** (14 mg)、**15** (12 mg)、**16** (9 mg)。亚组分 Fr. E2.3.2 (220 mg) 先经硅胶柱色谱分离, 以正己烷-醋酸乙酯 (5:1→1:1) 梯度洗脱, 再经甲醇重结晶得一混合无色针晶 (**17** 和 **18**, 30 mg)。

2.2 组分筛选

MTT 细胞毒性实验: 取对数生长期 RAW264.7/BV2 细胞接种于 96 孔板中 (每孔 1×10^5 个细胞), 37℃、5%CO₂ 条件下温孵培养 12 h 后, 给药组分别加入不同浓度的待测样品 (终质量浓度分别为 50、100、200 μg/mL), 同时每种药物均设加入或不加入 LPS (1 μg/mL) 2 组。溶剂对照组均不加入受试药物及 LPS, 但加入体积分数为 0.1% 的 DMSO。继续温孵培养 12 h 后, 每孔取出 100 μL 上清液, 加入终质量浓度为 100 mg/mL 的 MTT 工作液孵育 0.5 h。形成的甲臌盐使用酸化异丙醇溶解, 在酶标仪 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 540 nm 处测定各孔吸光度 (*A*) 值, 以正常组细胞 (未处理) 的 *A* 值所对应的细胞存活率为 100%, 计算细胞存活率。每组重复 3 次实验。结果见表 1。

一氧化氮 (NO) 实验: 采用 Griess 法检测对 LPS 刺激下的 RAW264.7/BV2 细胞分泌 NO 的抑制作用。取对数生长期 RAW264.7/BV2 细胞接种于 96 孔板中 (每孔 1×10^5 个细胞), 37℃、5% CO₂ 条件下温孵培养 12 h 后加入 100 μL 不同浓度的待测样品 (终质量浓度分别为 50、100、200 μg/mL), 温孵培养 1 h 后加入 100 μL 的 LPS (1 μg/mL), 同时设模型组 (LPS+培养液)、阳性对照组 (紫铆因+LPS+培养液)、空白对照组 (培养液), 继续温孵培养 12 h。每组重复 3 次实验。将上清液 (100 mL) 与等体积的格氏试剂混合, 用酶联免疫检测仪测定混合物在 540 nm 处的 *A* 值。计算 NO 抑制率, 结果见表 2。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色针晶 (甲醇), ESI-MS *m/z*: 161

表 1 糙叶五加茎各粗提物对 LPS 刺激的 RAW264.7/BV2 细胞存活率的影响

Table 1 Inhibitory effects of different extracts from stems of *A. henryi* on LPS-stimulated cell viability of RAW264.7/BV2 cells

粗提物/萃取物	细胞存活率/%	
	BV2	RAW264.7
甲醇提取物	70.6	78.1
热水提取物	65.0	74.5
石油醚萃取物	59.7	54.7
醋酸乙酯萃取物	74.3	72.1
正丁醇萃取物	49.0	51.5

表 2 糙叶五加茎各粗提物对 LPS 刺激的 RAW264.7/BV2 细胞 NO 抑制活性

Table 2 Inhibitory effects of different extracts from the stems of *A. henryi* on LPS-stimulated NO production in RAW264.7/BV2 cells

粗提物/萃取物	NO 抑制率/%	
	BV2	RAW264.7
甲醇提取物	67.8 (200 μg·mL ⁻¹)	82.1 (200 μg·mL ⁻¹)
热水提取物	38.8 (200 μg·mL ⁻¹)	22.3 (200 μg·mL ⁻¹)
石油醚萃取物	86.0 (50 μg·mL ⁻¹)	95.0 (50 μg·mL ⁻¹)
醋酸乙酯萃取物	98.6 (100 μg·mL ⁻¹)	91.9 (100 μg·mL ⁻¹)
正丁醇萃取物	42.7 (200 μg·mL ⁻¹)	90.3 (100 μg·mL ⁻¹)

[M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.87 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, 6), 6.80 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 170.1 (C-7, -COOH), 163.5 (C-4), 133.1 (C-2, 6), 122.8 (C-1), 116.1 (C-3, 5)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **1** 为对羟基苯甲酸。

化合物 **2**: 无色针晶 (甲醇), ESI-MS *m/z*: 187 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.60 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7), 7.45 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3, 5), 6.29 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 169.9 (C-9, -COOH), 159.8 (C-4), 145.6 (C-7), 129.9 (C-2, 6), 126.1 (C-1), 115.6 (C-3, 5), 114.4 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **2** 为反式对羟基肉桂酸。

化合物 **3**: 无色针晶 (甲醇); ESI-MS *m/z*: 217 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 7.51 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7), 7.02 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.92 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 6.76 (1H, d, *J* =

8.0 Hz, H-5), 6.23 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.74 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 168.4 (C-9), 148.3 (C-4), 145.6 (C-7), 145.5 (C-3), 126.4 (C-1), 121.6 (C-6), 115.2 (C-5), 113.8 (C-2), 113.5 (C-8), 50.6 (-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为反式咖啡酸甲酯。

化合物 **4**: 无色针晶 (甲醇); ESI-MS m/z : 203 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.54 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.03 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.93 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.23 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 166.8 (C-9, -COOH), 149.0 (C-4), 146.3 (C-3), 145.2 (C-7), 126.2 (C-1), 121.7 (C-6), 116.3 (C-5), 115.2 (C-8), 115.1 (C-2)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为咖啡酸。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 201 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.58 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-9), 7.60 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.26 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2), 7.18 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6), 6.86 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.68 (1H, dd, $J = 16.0, 8.0$ Hz, H-8), 3.90 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 194.8 (C-9, -CHO), 154.9 (C-7), 150.0 (C-3), 148.0 (C-4), 126.1 (C-1), 125.4 (C-8), 123.8 (C-6), 115.3 (C-5), 110.9 (C-2), 55.5 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为反式松柏醛。

化合物 **6**: 无色针晶 (甲醇); ESI-MS m/z : 205 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.74 (1H, s, -CHO), 7.22 (2H, s, H-2, 6), 3.91 (6H, s, 3, 5-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 191.6 (C-7, -CHO), 148.3 (C-3, 5), 142.4 (C-4), 127.9 (C-1), 107.0 (C-2, 6), 55.5 (3, 5-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为丁香醛。

化合物 **7**: 无色油状物 (甲醇); ESI-MS m/z : 175 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.74 (1H, s, -CHO), 7.44 (1H, s, H-2), 7.42 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.95 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 3.91 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 191.5 (C-7, -CHO), 153.4 (C-4), 148.4 (C-3), 129.4 (C-1), 126.6 (C-6), 115.0 (C-5), 110.0 (C-2), 55.1 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为香草醛。

化合物 **8**: 无色针晶 (甲醇), 紫外 254 nm 和

365 nm 均显亮蓝色荧光, ESI-MS m/z : 215 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.85 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 7.09 (1H, s, H-5), 6.76 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 3.90 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 162.7 (C-2), 151.7 (C-7), 150.1 (C-9), 145.8 (C-6), 144.8 (C-4), 111.3 (C-3), 111.2 (C-10), 108.7 (C-5), 102.7 (C-8), 55.5 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为 6-甲氧基-7-羟基香豆素。

化合物 **9**: 淡黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 231 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.59 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-9, -CHO), 7.60 (1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-7), 6.99 (2H, s, H-2, 6), 6.69 (1H, dd, $J = 15.7, 7.8$ Hz, H-8), 3.89 (6H, s, 3, 5-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 196.1 (C-9, -CHO), 156.3 (C-8), 149.5 (C-3, 5), 135.1 (C-4), 127.0 (C-7), 124.3 (C-1), 105.2 (C-2, 6), 56.7 (3, 5-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为反式芥子醛。

化合物 **10**: 白色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 253 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 3.64 (3H, s, -OCH₃), 2.31 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.24 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-10), 1.60 (4H, m, H-3, 9), 1.33~1.28 (10H, brs, H-4~8)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **10** 为十一烷二酸单甲酯。

化合物 **11**: 无色针晶 (甲醇), $[\alpha]_D^{20} -46.7^\circ$ (c 6.10, CHCl₃); ESI-MS m/z : 377 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 3.05 (2H, m, H-8, 8'), 3.86 (2H, dd, $J = 9.2, 3.6$ Hz, H-9a, 9'a), 4.23 (2H, dd, $J = 9.2, 6.8$ Hz, H-9e, 9'e), 4.71 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, H-7, 7'), 5.94 (4H, s, 2×OCH₂O), 6.76~6.81 (4H, m, H-5, 6, 5', 6'), 6.84 (2H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2, 2'); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 148.1 (C-3, 3'), 147.2 (C-4, 4'), 135.2 (C-1, 1'), 119.4 (C-6, 6'), 108.3 (C-5, 5'), 106.6 (C-2, 2'), 101.2 (2×OCH₂O), 85.9 (C-7, 7'), 71.8 (C-9, 9'), 54.4 (C-8, 8')。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **11** 为 (-)-芝麻素。

化合物 **12**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 377 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.48 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.09 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.95 (1H, dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.25 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 5.20 (1H, m, H-3), 3.98 (1H, brs, H-5), 3.54 (1H, dd, $J = 10.0, 2.0$ Hz, H-4), 1.88 (2H, m, H-2), 1.73 (1H, brd, $J =$

13.2 Hz, H-6a), 2.06 (1H, brd, $J = 12.0$ Hz, H-6b); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.2 (C-7), 167.0 (C-9'), 149.5 (C-4'), 146.5 (C-3'), 145.4 (C-7'), 125.9 (C-1'), 121.8 (C-6'), 116.5 (C-5'), 115.4 (C-2'), 114.9 (C-8'), 76.1 (C-1), 73.7 (C-4), 71.9 (C-3), 71.8 (C-5), 40.2 (C-2), 38.6 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[15-17], 故鉴定化合物 **12** 为 3-*O*-咖啡酰奎宁酸。

化合物 **13**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 377 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.57 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.05 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.93 (1H, dd, $J = 8.4, 1.6$ Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.29 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 5.40 (1H, m, H-5), 4.17 (1H, m, H-3), 3.73 (1H, dd, $J = 9.6, 3.2$ Hz, H-4), 2.18 (2H, m, H-2a, 6a), 2.03 (2H, m, H-2b, 6b); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 178.6 (C-7), 167.9 (C-9'), 148.2 (C-4'), 145.7 (C-3'), 145.4 (C-7'), 126.5 (C-1'), 121.7 (C-6'), 115.3 (C-5'), 114.2 (C-2'), 114.0 (C-8'), 76.5 (C-1), 73.3 (C-4), 71.3 (C-3), 71.1 (C-5), 38.9 (C-2), 37.4 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[15,18], 故鉴定化合物 **13** 为 5-*O*-咖啡酰奎宁酸。

化合物 **14**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 539 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.49 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7''), 7.40 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7'), 7.05 (1H, brs, H-2''), 7.01 (1H, brs, H-2'), 6.94 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6''), 6.90 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 6.74 (2H, brs, H-5'', 5'), 6.25 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8''), 6.18 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 5.28 (1H, brs, H-3), 4.01 (1H, brs, H-5), 3.54 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-4), 2.58 (1H, m, H-6a), 2.38 (1H, m, H-2a), 2.19 (1H, m, H-6b), 1.81 (1H, m, H-2b); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 175.8 (C-7), 166.9 (C-9''), 165.6 (C-9'), 149.9 (C-4''), 149.1 (C-4'), 146.6 (C-3''), 146.5 (C-3'), 145.5 (C-7''), 144.3 (C-7'), 126.1 (C-1''), 125.6 (C-1'), 121.9 (C-6''), 121.2 (C-6'), 116.5 (C-5''), 116.5 (C-5'), 115.3 (C-2''), 115.2 (C-2'), 116.5 (C-8'), 114.7 (C-8''), 82.4 (C-1), 73.2 (C-4), 70.9 (C-3), 69.6 (C-5), 38.3 (C-2), 35.3 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[15-16], 故鉴定化合物 **14** 为 1,3-双咖啡酰奎宁酸。

化合物 **15**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 539 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.50 (2H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7', 7''), 7.02 (2H, m, H-2', 2''), 6.95 (2H, m, H-6', 6''), 6.75 (2H, m, H-5', 5''), 6.24 (2H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8', 8''), 5.55 (1H, brs, H-3), 4.98 (1H,

brs, H-4), 4.24 (1H, brs, H-5), 2.15 (3H, m, H-6a, 6b, 2a), 1.87 (1H, brs, H-2b); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.6 (C-7), 166.8 (C-9''), 166.6 (C-9'), 149.2 (C-4''), 149.2 (C-4'), 146.2 (C-3''), 146.2 (C-3'), 146.1 (C-7''), 146.1 (C-7'), 126.1 (C-1''), 125.8 (C-1'), 122.0 (C-6''), 122.0 (C-6'), 116.4 (C-5''), 116.4 (C-5'), 115.4 (C-2''), 115.4 (C-2'), 114.2 (C-8''), 114.2 (C-8'), 76.8 (C-1), 76.1 (C-4), 68.4 (C-3), 69.1 (C-5), 40.2 (C-2), 38.3 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[15,19], 故鉴定化合物 **15** 为 1,4-双咖啡酰奎宁酸。

化合物 **16**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 539 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.50 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7''), 7.38 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.03 (2H, brs, H-2', 2''), 6.94 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H-6', 6''), 6.73 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5', 5''), 6.23 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''), 6.20 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-8'), 5.18 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-5), 3.68 (1H, brs, H-3), 3.65 (1H, brs, H-4), 2.25 (1H, t, $J = 12.0$ Hz, H-6a), 1.98 (3H, m, H-2a, 2b, 6b); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.2 (C-7), 166.4 (C-9''), 165.7 (C-9'), 148.9 (C-4''), 148.6 (C-4'), 146.3 (C-3''), 146.2 (C-3'), 145.3 (C-7''), 144.3 (C-7'), 126.3 (C-1''), 126.1 (C-1'), 121.6 (C-6''), 121.0 (C-6'), 116.3 (C-5''), 116.3 (C-5'), 115.5 (C-2''), 115.4 (C-2'), 115.1 (C-8''), 116.2 (C-8'), 83.1 (C-1), 71.4 (C-4), 69.3 (C-3), 70.1 (C-5), 40.0 (C-2), 34.0 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[15-16], 故鉴定化合物 **16** 为 1,5-双咖啡酰奎宁酸。

化合物 **17**: 无色针晶 (甲醇); ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.32 (1H, brs, H-6), 5.15 (1H, dd, $J = 15.2, 8.4$ Hz, H-23), 3.52 (1H, m, H-3 α), 0.97 (3H, s, H-19), 0.89 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-21), 0.82 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-26), 0.83 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-29), 0.77 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-27), 0.65 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 140.9 (C-5), 138.4 (C-22), 129.4 (C-23), 121.8 (C-6), 71.9 (C-3), 57.0 (C-14), 56.1 (C-17), 51.3 (C-24), 50.2 (C-9), 42.4 (C-4), 42.3 (C-13), 40.6 (C-20), 39.8 (C-12), 37.4 (C-1), 36.6 (C-10), 32.0 (C-7), 32.0 (C-8), 32.0 (C-25), 31.7 (C-2), 29.0 (C-16), 25.5 (C-28), 24.4 (C-15), 21.3 (C-11), 21.2 (C-21), 19.5 (C-26), 19.1 (C-19), 19.1 (C-27), 12.3 (C-29), 12.1 (C-18)。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **17** 为 豆甾醇。

化合物 **18**: 无色针晶 (甲醇); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.31 (1H, brs, H-6), 3.52 (1H, m, H-3 α), 0.99 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 0.97 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-26), 0.79 (3H, t, J = 7.2 Hz, H-29), 0.77 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-27), 0.66 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 140.9 (C-5), 121.8 (C-6), 71.9 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.2 (C-9), 45.9 (C-24), 42.4 (C-4), 42.4 (C-13), 39.9 (C-12), 37.4 (C-1), 36.6 (C-10), 36.2 (C-20), 34.0 (C-22), 32.0 (C-7), 32.0 (C-8), 31.7 (C-2), 29.3 (C-25), 28.3 (C-16), 26.2 (C-23), 24.4 (C-15), 23.2 (C-28), 21.2 (C-11), 19.9 (C-27), 19.5 (C-19), 19.1 (C-21), 18.9 (C-26), 12.1 (C-29), 11.9 (C-18)。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **18** 为 β -谷甾醇。

4 讨论

本实验基于 LPS 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 和小胶质细胞 BV2 模型, 首次对糙叶五加茎进行了抗炎活性导向下的化学成分研究, 从抗炎活性较好的醋酸乙酯萃取部位中分离鉴定出 18 个化合物, 包括 8 个酚类、5 个咖啡酰基奎宁酸类、2 个植物甾醇、1 个木脂素、1 个香豆素、1 个长链脂肪酸; 其主要成分为酚类和咖啡酰基奎宁酸类。而其叶的化学成分研究, 已报道了 31 个化合物, 包括 16 个三萜皂苷、5 个黄酮、6 个咖啡酰基奎宁酸、1 个蒽醌、1 个脂肪酰胺苷、1 个有机酸、1 个甾体苷^[2-5]; 叶的主要成分为三萜皂苷、黄酮和咖啡酰基奎宁酸。比较茎和叶的化学成分发现, 两者的物质基础存在明显的差异, 建议在药用时分开使用。本实验进一步丰富了五加科五加属植物的研究内容, 同时为中国特产植物糙叶五加的研究提供一定的参考和借鉴。对于这些单体化合物的潜在抗炎活性研究有待进一步进行。

参考文献

- [1] 湖南省中药材标准 [S]. 2009.
- [2] Zhang X D, Liu X Q, Kim Y H, *et al.* Chemical constituents and their acetyl cholinesterase inhibitory and antioxidant activities from leaves of *Acanthopanax henryi*: Potential complementary source against Alzheimer's disease [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37(5): 606-616.
- [3] Li Z, Li X J, Kwon O K, *et al.* Chemical constituents from leaves of *Acanthopanax henryi* (II) [J]. *Nat Prod Sci*, 2015, 21(3): 196-204.
- [4] Han Y H, Li Z, Um J Y, *et al.* Anti-adipogenic effect of glycoside St-E2 and glycoside St-C1 isolated from the leaves of *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms in 3T3-L1 cells [J]. *Biosc Biotechnol Biochem*, 2016, 80(12): 2391-2400.
- [5] Kang D H, Kang O H, Li Z, *et al.* Anti-inflammatory effects of Ciwujianoside C3, extracted from the leaves of *Acanthopanax henryi* (Oliv.) Harms, on LPS-stimulated RAW 264.7 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(4): 3749-3758.
- [6] 张艳军, 聂辉, 周德雄, 等. 桂野桐化学成分的研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(11): 2172-2176.
- [7] 李汝鑫, 程锦堂, 焦梦娇, 等. 钩藤叶化学成分研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(8): 1499-1505.
- [8] 霍立娜, 王威, 刘洋, 等. 紫苏叶化学成分研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(1): 26-31.
- [9] 丁林芬, 王海垠, 王扣, 等. 福建柏化学成分研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(4): 639-643.
- [10] 余小红, 李盼盼, 耿圆圆, 等. 小远志化学成分研究 [J]. *林产化学与工业*, 2017, 37(1): 149-154.
- [11] 李干鹏, 罗阳, 李尚秀, 等. 小叶杜鹃花的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2014, 45(12): 1668-1672.
- [12] 袁谱龙, 王雪萍, 陈凯先, 等. 水茄茎化学成分的研究 [J]. *中成药*, 2016, 38(1): 104-107.
- [13] Ravi S, Padmanabhan D, Mamdapur V R. Macrocyclic musk compounds: Synthetic approaches to key intermediates for exaltolide, exaltone and dilactones [J]. *J Indian Institute Sci*, 2013, 81(3): 299-312.
- [14] 于凯, 宋洋, 路阳, 等. 无梗五加根中苯丙素类化合物的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2012, 24(4): 469-472.
- [15] Ma Y C, Wang X Q, Hou F F, *et al.* Rapid resolution liquid chromatography (RRLC) analysis and studies on the stability of Shuang-Huang-Lian preparations [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 54(2): 265-272.
- [16] 李菁, 于德泉. 灯盏花化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(11): 1458-1462.
- [17] Kwon H C, Jung C M, Shin C G, *et al.* A new caffeoyl quinic acid from *Aster scaber* and its inhibitory activity against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) integrase [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(11): 1796-1798.
- [18] Lin L C, Yang L L, Chou C J. Constituents from the stems of *Ecdysanthera rosea* [J]. *J Chin Med*, 2002, 13(4): 191-195.
- [19] Kim W K, Bach D H, Ryu H W, *et al.* Cytotoxic activities of *Telectadium dongnaiense* and its constituents by inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Phytomedicine*, 2017, 34: 136-142.
- [20] 刘恒言, 金钟煥, 刘向前, 等. 糙叶五加根皮化学成分研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2012, 32(11): 34-37.