

艾绒的化学成分研究

雷青会^{1,2,3}, 靳景惠^{1,2}, 李东阳^{3,4}, 魏文君^{1,2}, 陈随清², 郭 涛^{1,2*}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046
2. 河南省药食同源中药技术工程研究中心, 河南 郑州 450046
3. 河南省中医药大健康产业工程技术研究中心, 河南 郑州 450046
4. 河南中医药大学张仲景传承创新中心, 河南 郑州 450046

摘要: **目的** 对艾绒的化学成分进行研究。**方法** 采用硅胶、ODS、MCI、Sephadex LH-20 和 prep HPLC 等现代色谱技术对其化学成分进行分离纯化, 利用 MS、NMR 等现代波谱技术鉴定单体化合物结构; 采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 炎症模型, 开展新化合物的抗炎活性评价。**结果** 从艾绒醋酸乙酯提取物中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为 (4*S*,5*S*)-5-[(*R*)-5'-hydroxy-2'-methyl-3'-oxocyclopent-1'-en-1'-yl]-3-methylene-4-(3-oxobutyl)dihydrofuran-2(3*H*)-one (**1**)、*iso-seco*-tanaparthalide (**2**)、3-methoxy-tanaparthalide (**3**)、3-acetyl-*iso-seco*-tanaparthalide (**4**)、甲基条叶蓟素 (**5**)、圣草酚 (**6**)、泽兰黄素 (**7**)、半齿泽兰素 (**8**)、茵陈色原酮 (**9**)、矢车菊黄素 (**10**)、柚皮素 (**11**)、高圣草酚 (**12**)、异泽兰黄素 (**13**)。化合物 **1** 能够抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 NO 的生成量, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值为 (31.15±2.30) μmol/L。**结论** 化合物 **1** 为新化合物, 并命名为 1*R*-长叶艾菊内酯, 化合物 **4** 为首次从菊科植物中分离得到; 化合物 **1** 具有一定的抗炎活性。

关键词: 艾; 艾绒; 倍半萜类; 黄酮类; 抗炎; 1*R*-长叶艾菊内酯; 3-acetyl-*iso-seco*-tanaparthalide; 圣草酚; 泽兰黄素; 柚皮素; 高圣草酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)12-3949-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.12.003

Chemical constituents from moxa floss

LEI Qinghui^{1,2,3}, JIN Jinghui^{1,2}, LI Dongyang^{3,4}, WEI Wenjun^{1,2}, CHEN Suiqing², GUO Tao^{1,2}

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
2. Henan Engineering Research Center of Medicinal and Edible Chinese Medicine Technology, Zhengzhou 450046, China
3. Engineering Technology Research Center of TCM Great Health Industry, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
4. Zhang Zhongjing Inherited and Innovative Center of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of moxa floss. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by silica gel, ODS, MCI, Sephadex LH-20 and prep HPLC, and their structures were elucidated using MS and NMR. Meanwhile, the Griess method was used to evaluate the anti-inflammatory activity by testing the inflammatory factor release model induced by lipopolysaccharide (LPS) in mouse macrophage RAW264.7 cells. **Results** A total of 13 compounds were isolated from the ethyl acetate extract of moxa floss and identified as (4*S*,5*S*)-5-[(*R*)-5'-hydroxy-2'-methyl-3'-oxocyclopent-1'-en-1'-yl]-3-methylene-4-(3-oxobutyl)dihydrofuran-2(3*H*)-one (**1**), *iso-seco*-tanaparthalide (**2**), 3-methoxy-tanaparthalide (**3**), 3-acetyl-*iso-seco*-tanaparthalide (**4**), cirsilineol (**5**), eriodictyol (**6**), nepetin (**7**), eupatorin (**8**), capillarisin (**9**), centaureidin (**10**), naringenin (**11**), homoeriodictyol (**12**), and eupatilin (**13**). *In vitro* anti-inflammatory assays showed that compound **1** inhibited the release of NO in RAW264.7 cells induced by LPS with IC₅₀ value of 31.15±2.30 μmol/L. **Conclusion** Compound **1** was a new compound, which was identified as 1*R*-tanaphillin, and compound **4** was isolated from Compositae for the first time. Compound **1** had certain anti-

收稿日期: 2024-02-25

基金项目: 河南省高层次人才国际化培养项目 (豫科[2021]72); 河南省重大科技专项 (221100310400)

作者简介: 雷青会 (2000—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为中药化学。E-mail: Leiqh0127@163.com

*通信作者: 郭 涛, 男, 研究方向为中药质量控制。E-mail: gt010010@163.com

inflammatory activity.

Key words: *Artemisia argyi* H. Lév. & Vaniot; moxa floss; sesquiterpenes; flavonoids; anti-inflammatory; 1*R*-tanaphillin; 3-acetyl-*iso-seco*-tanaparthalide; eriodictyol; nepetin; naringenin; homoeriodictyol

艾绒是由菊科蒿属植物艾 *Artemisia argyi* H. Lév. & Vaniot 的干燥叶经反复捶打而得, 是灸法中应用较广的首要灸材^[1]。艾灸是一种通过燃烧艾绒来调节气血、疏通经络的疗法, 具有抗炎、抗肿瘤和抗菌等作用, 广泛用于治疗类风湿性关节炎、月经不调和跌打损伤等症状^[2]。本研究对艾绒醋酸乙酯提取物中化学成分进行研究, 分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为 (4*S*,5*S*)-5-[(*R*)-5'-hydroxy-2'-methyl-3'-oxocyclopent-1'-en-1'-yl]-3-methylene-4-(3-oxobutyl) dihydrofuran-2(3*H*)-one (**1**)、*iso-seco*-tanaparthalide (**2**)、3-methoxy-tanaparthalide (**3**)、3-acetyl-*iso-seco*-tanaparthalide (**4**)、甲基条叶蓟素 (cirsilineol, **5**)、圣草酚 (eriodictyol, **6**)、泽兰黄素 (nepetin, **7**)、半齿泽兰素 (eupatorin, **8**)、茵陈色原酮 (capillarisin, **9**)、矢车菊黄素 (centaureidin, **10**)、柚皮素 (naringenin, **11**)、高圣草酚 (homoeriodictyol, **12**)、异泽兰黄素 (eupatilin, **13**)。化合物 **1**~**4** 为倍半萜类化合物, 化合物 **5**~**8**、**10**~**13** 为黄酮类化合物, 化合物 **9** 为色原酮类化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **4** 为首次从菊科植物中分离得到。利用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 建立体外炎症模型, 评价化合物 **1** 的抗炎活性。结果表明, 化合物 **1** 能显著降低 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 NO 的释放量, 具有较好的抗炎活性。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE 500 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); SGW X-4B 型熔点仪 (上海仪电物理光学仪器有限公司); Autopol VI 型旋光仪 (大昌华嘉商业有限公司); LC-52 型高压制备液相色谱仪 (赛普锐思北京科技有限公司); YMC-Pack ODS-A 液相色谱柱 (AA12S05-2510WT, 250 mm×10 mm, S-5 μm, 12 nm)、ODS-A-HG 反相 C₁₈ 填料、ZF-20D 型暗紫外分光仪 (日本 YMC 公司); CA-1116A 型冷却水循环装置、N-1300 型旋转蒸发器、OSB-2200 型油浴锅、NVP-2000 型隔膜真空泵 (上海爱朗仪器有限公司); 柱色谱所用 100~200 目硅胶、TLC 硅胶薄层板 (青岛海洋化工有限公司); MCI Gel CHP 20P (日本三菱化学公司); Sephadex LH-20 (瑞典

Parmacia Biotech 公司)。甲醇、乙腈 (色谱纯), 二氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯、石油醚 (分析纯) (天津市富宇精细化工有限公司); 水为超纯水。

艾绒样品 (精细度为 8:1) 由南阳华康艾制品有限公司提供, 经河南中医药大学药学院郭涛教授鉴定为来源于菊科蒿属植物艾 *A. argyi* Lév. & Vaniot 叶的加工品; 留样标本 (20220816-A) 存放于河南中医药大学药学院河南省药食同源中药技术工程研究中心。

2 提取与分离

取 10 kg 艾绒选用醋酸乙酯冷浸提取 2 次, 每次 7 d, 将提取液减压浓缩得 462.5 g 浸膏, 总提物经硅胶柱色谱分离, 依次用石油醚-醋酸乙酯 (30:1~3:1)、二氯甲烷-甲醇 (20:1~3:1) 梯度洗脱, 得到 12 个组分 Fr. 1~12。

将 Fr. 10 经 MCI 柱色谱, 甲醇-水 (30%、50%、70%、100%) 混合溶剂梯度洗脱, 得到 6 个亚组分 Fr. 10-1~10.6, 将亚组分 Fr. 10-1 经 HW-40 柱色谱, 甲醇-水 (水、10%、20%、30%、50%、100%) 混合溶剂梯度洗脱得 Fr. 10-1-1~10-1-11。Fr. 10-1-11 经半制备高效液相色谱, 甲醇-水 (20:80, 2 mL/min) 洗脱, 得到化合物 **1** (14.6 mg, *t_R*=22.0 min)。Fr. 10-1-10 经半制备高效液相色谱, 甲醇-水 (38:62, 2 mL/min) 得到化合物 **2** (54.5 mg, *t_R*=32.2 min)。将组分 Fr. 10-1-5 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (水、30%、40%、45%、100%) 混合溶剂梯度洗脱得 Fr. 10-1-5-1~10-1-5-3。Fr. 10-1-5-1 经半制备高效液相色谱, 甲醇-水 (25:75, 2 mL/min) 得到化合物 **3** (41.9 mg, *t_R*=53.4 min)。Fr. 10-1-5-3 经半制备高效液相色谱, 甲醇-水 (40:60, 2 mL/min) 得到化合物 **4** (24.4 mg, *t_R*=22.1 min)。亚组分 Fr. 10-5 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 纯甲醇等度洗脱, 得到化合物 **5** (28.5 mg)。亚组分 Fr. 10-3 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 甲醇洗脱, 得到 Fr. 10-3-1~10-3-4, Fr. 10-3-4 经半制备高效液相色谱, 甲醇-水 (45:55, 3 mL/min) 得到化合物 **6** (3.0 mg, *t_R*=25.1 min) 和 **7** (4.5 mg, *t_R*=43.7 min)。

将 Fr. 9 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (10%、30%、60%、80%、100%) 梯度洗脱得 Fr. 9-1~9-5。亚组分

Fr. 9-1 析出黄色粉末, 反复重结晶得到化合物 **8** (75.7 mg)。亚组分 Fr. 9-3 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 甲醇洗脱, 得到 Fr. 9-3-1~9-3-3。Fr. 9-3-2 经半制备高效液相色谱, 甲醇-水 (55:45, 3 mL/min) 洗脱得到化合物 **9** (2.7 mg, $t_R=27.2$ min) 和 **10** (2.2 mg, $t_R=34.5$ min)。Fr. 9-3-3 经半制备高效液相色谱, 甲醇-水 (50:50, 3 mL/min) 得到化合物 **11** (7.4 mg, $t_R=80.8$ min) 和 **12** (6.5 mg, $t_R=91.3$ min)。亚组分 Fr. 9-4 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 甲醇洗脱, 得到化合物 **13** (77.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末 (甲醇)。UV 显示最大吸收波长为 203、208、212 nm, $[\alpha]_D^{20} +3.0^\circ$ (c 0.04, CD_3OD), HR-ESI-MS 谱给出准分子离子峰 m/z 277.108 6 $[M-H]^-$, (计算值为 277.108 1), 确定其分子式为 $C_{15}H_{18}O_5$, 不饱和度为 7。 ^{13}C -NMR 谱显示 15 个碳信号 (表 1), 结合 DEPT-135 和 HSQC 谱, 提示结构中具有 2 个甲基信号, 4 个亚甲基信号 [δ_C 122.0 (C-13) 为烯烃碳信号], 3 个次甲基信号 [δ_C 75.9 (C-6) 和 71.4 (C-1) 连氧次甲基信号], 6 个季碳信号 [δ_C 208.5 (C-10), 204.8 (C-3) 为羰基信号, δ_C 173.4 (C-12) 为内酯羰基信号, δ_C 175.5 (C-5), 136.6 (C-4), 138.1 (C-11) 为烯烃季碳信号], δ_C

175.5 为典型的 α , β -不饱和酮信号。 1H -NMR 高场区显示 2 个甲基信号, 连氧区出现内酯氢信号 [δ_H 4.70 (1H, d, $J=6.0$ Hz, H-6)], δ_H 5.66 (1H, d, $J=2.5$ Hz), 6.32 (1H, d, $J=3.0$ Hz) 为化合物的末端烯烃质子信号 (H-13), 为典型的 α,β -不饱和内酯。 1H - 1H COSY 谱 (图 1) 显示出 H-6/H-7/H-8/H-9、H-13/H-7 之间的相关; 结合 HMBC 谱显示, H-13/C-11 和 C-12 相关, H-6/C-4、C-12 和 C-5 相关, H-1/C-3、C-4 和 C-5 相关, H-7/C-12 和 C-13 相关, H-2/C-1、C-3、C-4、C-5 相关, H-9/C-7、C-8 和 C-10 相关, H-15/C-3、C-4、C-6 相关, H-14/C-9 和 C-10 相关。在 NOESY 谱 (图 1) 中, H-13a/H-6/H-1 存在明显相关, 表明其位于同侧; H-13b/H-7 存在明显相关, 表明其位于同侧。使用 PCM 模型在甲醇溶剂中分别针对化合物 **1** 可能的绝对构型在 B3LYP/6-31g(d, p) 计算水平上得到计算的 ECD 谱图 (图 2), 经过与实验 ECD 谱图比对, 确定化合物 **1** 的绝对构型为 1*R*,6*S*,7*S*。与文献报道^[3]中的已知化合物 tanaphallin 的数据比对, 它们具有相同的平面结构, 但在 C-1 的立体化学上有所不同。查阅 Scifinder 数据库确定为新化合物, 命名为 1*R*-tanaphallin。

化合物 **2**: 黄色油状物 (甲醇)。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.24 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-13a), 5.74

表 1 化合物 **1** 的 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (500/125 MHz, $CDCl_3$)
Table 1 1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound **1** (500/125 MHz, $CDCl_3$)

碳位	1 ($CDCl_3$)		tanaphallin ($CDCl_3$)	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	71.4	4.70 (1H, d, $J=6.0$ Hz)	71.4	4.72 (1H, d, $J=5.5$ Hz)
2	41.5	2.80 (1H, dd, $J=18.5, 6.5$ Hz) 2.32 (1H, d, $J=6.0$ Hz)	44.2	2.82 (1H, dd, $J=18.5, 6.5$ Hz) 2.34 (1H, d, $J=6.0$ Hz)
3	204.8		203.4	
4	136.6		137.2	
5	175.5		176.1	
6	75.9	5.43 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	76.4	4.96 (1H, d, $J=5.5$ Hz)
7	43.9	3.29 (1H, m)	42.7	3.12 (1H, m)
8	23.0	1.51 (1H, m), 1.71 (1H, m)	27.4	1.90 (2H, m)
9	40.3	2.43 (1H, dd, $J=8.5, 5.5$ Hz), 2.50 (1H, dd, $J=8.5, 6.5$ Hz)	44.3	2.56 (2H, m)
10	208.5		207.6	
11	138.1		138.4	
12	173.4		173.7	
13a	122.0	6.32 (1H, d, $J=3.0$ Hz)	122.7	6.35 (1H, d, $J=2.5$ Hz)
13b		5.66 (1H, d, $J=2.5$ Hz)		5.67 (1H, d, $J=2.0$ Hz)
14	29.8	2.14 (3H, s)	29.9	2.16 (3H, s)
15	14.2	2.24 (3H, s)	14.1	2.18 (3H, s)

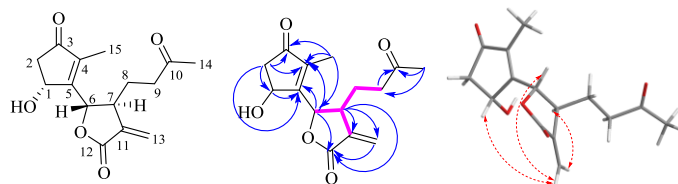


图 1 化合物 1 的化学结构和主要的 ^1H - ^1H COSY (—), HMBC (—) 和 NOESY (---) 相关信号

Fig. 1 Chemical structure and key ^1H - ^1H COSY (—), HMBC (—) and NOESY (---) correlations of compound 1

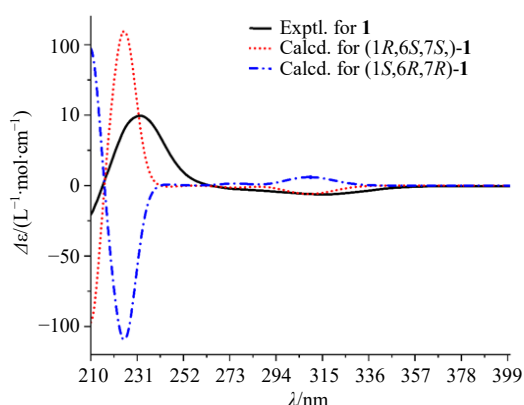


图 2 化合物 1 的计算 ECD 曲线和实测 ECD 曲线

Fig. 2 Calculated and experimental ECD spectra of compound 1

(1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-13b), 5.05 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-6), 4.48 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-3), 3.15 (1H, m, H-7), 2.77 (1H, dd, $J = 18.5, 6.5$ Hz, H-2a), 2.57 (2H, m, H-9a, 9b), 2.30 (1H, dd, $J = 18.0, 1.5$ Hz, H-2b), 2.19 (3H, s, H-14), 2.12 (3H, s, H-15), 1.97 (1H, m, H-8a), 1.83 (1H, m, H-8b); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 210.3 (C-10), 205.5 (C-1), 176.1 (C-5), 172.1 (C-12), 140.6 (C-11), 137.9 (C-4), 122.7 (C-13), 77.6 (C-6), 71.8 (C-3), 45.2 (C-2), 43.5 (C-7), 40.4 (C-9), 29.8 (C-14), 28.5 (C-8), 13.8 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 2 为 *iso-seco-tanapartholide*。

化合物 3: 黄色油状物 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.24 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 5.74 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-13b), 5.06 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-6), 4.43 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-3), 3.42 (3H, s, 3-OCH₃), 3.15 (1H, dd, $J = 10.5, 2.5$ Hz, H-7), 2.70 (1H, dd, $J = 18.0, 6.0$ Hz, H-2a), 2.56 (2H, m, H-9a, 9b), 2.30 (1H, dd, $J = 18.0$ Hz, 1.5 Hz, H-2b), 2.17 (3H, s, H-14), 2.12 (3H, s, H-15), 1.98 (1H, td, $J = 14.0, 4.5$ Hz, H-8a), 1.83 (1H, td, $J = 14.5, 6.5$ Hz, H-8b); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 210.3 (C-1), 204.9 (C-10), 173.8 (C-4),

172.0 (C-12), 140.5 (C-5), 138.9 (C-11), 122.8 (C-13), 80.7 (C-3), 77.5 (C-6), 57.8 (3-OCH₃), 43.5 (C-7), 41.8 (C-2), 40.4 (C-9), 29.8 (C-14), 28.4 (C-8), 14.1 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 3 为 3-methoxy-tanapartholide。

化合物 4: 白色簇晶 (甲醇), mp 86~89 °C。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.26 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 5.75 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-13b), 5.72 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-3), 5.09 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-6), 3.18 (1H, m, H-7), 2.87 (1H, dd, $J = 18.5, 2.0$ Hz, H-2a), 2.59 (2H, m, H-9a, 9b), 2.30 (1H, dd, $J = 18.5, 1.5$ Hz, H-2b), 2.15 (3H, s, H-14), 2.13 (3H, s, 3-OAc), 2.11 (3H, s, H-15), 1.99 (1H, m, H-8a), 1.86 (1H, m, H-8b); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 210.3 (C-1), 204.1 (C-10), 172.2 (3-OAc), 172.0 (C-12), 170.1 (C-4), 140.4 (C-5), 140.2 (C-11), 122.9 (C-13), 77.4 (C-3), 74.0 (C-6), 43.5 (C-7), 42.7 (C-2), 40.4 (C-9), 29.8 (C-14), 28.5 (C-8), 20.6 (3-OAc), 14.1 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 4 为 3-acetyl-*iso-seco-tanapartholide*。

化合物 5: 黄色针晶 (吡啶), mp 145~147 °C。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 13.87 (1H, s, 5-OH), 7.68 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6'), 7.07 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 7.00 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-3), 6.94 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 3.98 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.85 (3H, s, 7-OCH₃), 3.82 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 183.6 (C-4), 164.6 (C-2), 159.3 (C-9), 154.6 (C-7), 154.2 (C-5), 153.9 (C-4'), 150.6 (C-3'), 133.1 (C-6), 124.7 (C-1'), 121.1 (C-2'), 110.5 (C-5', 6'), 105.8 (C-10), 104.8 (C-3), 95.8 (C-8), 60.7 (6-OCH₃), 56.5 (3'-OCH₃), 56.3 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 5 为甲基条叶蓟素。

化合物 6: 棕黄色粉末 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.91 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2'), 6.78 (2H, s, H-5', 6'), 5.89 (1H, s, H-8), 5.88 (1H, s, H-6),

5.27 (1H, dd, $J = 12.5, 3.0$ Hz, H-2), 3.05 (1H, dd, $J = 17.5, 12.5$ Hz, H-3a), 2.70 (1H, dd, $J = 17.5, 13.0$ Hz, H-3b); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 197.6 (C-4), 168.9 (C-7), 164.8 (C-5, C-9), 146.8 (C-4'), 146.5 (C-3'), 131.8 (C-1'), 119.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 114.7 (C-2'), 103.2 (C-10), 96.3 (C-8), 80.4 (C-2), 44.1 (C-3)。

以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为圣草酚。

化合物 **7**: 黄色油状物 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.37 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-6'), 7.10 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-5'), 6.55 (1H, s, H-8), 6.53 (1H, s, H-3), 3.87 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 184.2 (C-4), 166.4 (C-2), 158.9 (C-6), 154.6 (C-4), 153.9 (C-8), 151.0 (C-4'), 147.0 (C-3'), 132.9 (C-5'), 123.7 (C-1'), 120.3 (C-6'), 116.7 (C-5'), 114.1 (C-2'), 105.7 (C-8), 103.4 (C-3), 95.2 (C-7), 60.9 (OCH₃-6)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为泽兰黄素。

化合物 **8**: 黄色砂晶 (二氯甲烷), mp 196~198 °C。 ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 13.05 (1H, s, 5-OH), 7.52 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-6'), 7.33 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.97 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.59 (1H, s, H-8), 6.57 (1H, s, H-3), 4.04 (3H, s, 6-OCH₃), 3.97 (3H, s, 7-OCH₃), 3.95 (3H, s, 4'-OCH₃); ^{13}C -NMR (126 MHz, CDCl_3) δ : 183.0 (C-4), 164.2 (C-2), 153.3 (C-7), 152.4 (C-5), 152.2 (C-9), 152.0 (C-4'), 149.4 (C-3'), 130.2 (C-6), 123.8 (C-1'), 120.2 (C-6'), 111.3 (C-2', 5'), 108.9 (C-10), 104.1 (C-3), 93.5 (C-8), 60.8 (6-OCH₃), 56.2 (4', 7-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为半齿泽兰素。

化合物 **9**: 黄色针晶 (甲醇), mp 203~208 °C。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.10 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.42 (1H, s, H-8), 5.12 (1H, s, H-3), 3.85 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 185.8 (C-4), 170.2 (C-2), 158.3 (C-9), 157.6 (C-4'), 154.2 (C-7), 152.1 (C-5), 145.1 (C-1'), 133.2 (C-6), 122.8 (C-2', 6'), 117.6 (C-3', 5'), 103.9 (C-10), 95.2 (C-8), 87.6 (C-3), 60.9 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为茵陈色原酮。

化合物 **10**: 黄色粉末 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.71 (1H, s, H-6'), 7.65 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2'), 6.94 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.52 (1H,

s, H-8), 3.93 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.88 (3H, s, 6-OCH₃), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 180.2 (C-4), 158.9 (C-7), 157.9 (C-2), 153.8 (C-9), 151.1 (C-4', 5), 148.9 (C-3'), 139.3 (C-3), 132.6 (C-6), 123.7 (C-1'), 122.8 (C-6'), 116.4 (C-2'), 112.8 (C-5'), 101.4 (C-10), 95.1 (C-8), 60.9 (6-OCH₃), 60.6 (3-OCH₃), 56.5 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为矢车菊黄素。

化合物 **11**: 黄色粉末 (甲醇)。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.31 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6'), 7.31 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.88 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3'), 5.89 (1H, s, H-8), 5.89 (1H, s, H-6), 5.34 (1H, dd, $J = 12.5, 3.0$ Hz, H-2), 3.11 (1H, dd, $J = 17.5, 13.0$ Hz, H-3), 2.67 (1H, dd, $J = 17.5, 13.0$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 197.7 (C-4), 165.4 (C-7), 164.8 (C-5, C-9), 159.0 (C-4'), 131.1 (C-6'), 129.0 (C-2'), 116.3 (C-3'), 116.1 (C-5'), 103.3 (C-10), 97.0 (C-8), 96.1 (C-6), 80.4 (C-2), 44.0 (C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **11** 为柚皮素。

化合物 **12**: 淡黄色结晶 (甲醇), mp 223~226 °C。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.07 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2'), 6.92 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 6.82 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 5.90 (1H, s, H-8), 5.88 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6), 5.34 (1H, dd, $J = 13.0, 3.0$ Hz, H-2), 3.80 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.14 (1H, dd, $J = 17.0, 13.0$ Hz, H-3), 2.70 (1H, dd, $J = 17.0, 3.0$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 197.7 (C-4), 168.4 (C-7), 164.8 (C-5, C-9), 149.1 (C-4'), 148.1 (C-3'), 131.7 (C-1'), 120.5 (C-6'), 116.1 (C-5'), 111.2 (C-2'), 103.3 (C-10), 97.1 (C-6), 96.2 (C-8), 80.6 (C-2), 56.4 (C-6), 44.1 (5'-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **12** 为高圣草酚。

化合物 **13**: 黄色粉末 (DMSO)。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 13.01 (1H, s, 5-OH), 7.51 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6'), 7.41 (1H, s, H-2'), 6.97 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, s, H-8), 6.52 (1H, s, H-3), 3.83 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.80 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.76 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 182.1 (C-4), 163.2 (C-2), 157.2 (C-7), 152.7 (C-5), 152.4 (C-9), 152.0 (C-4'), 148.9 (C-3'), 131.3 (C-6), 122.8 (C-1'), 119.8 (C-6'), 111.4 (C-5'), 109.1 (C-2'), 104.1 (C-10), 103.2 (C-3), 94.3 (C-8), 59.9 (6-OCH₃), 55.7 (4'-

OCH₃), 55.6 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **13** 为异泽兰黄素。

4 体外抗炎活性评价

由于化合物 **2~13** 的抗炎活性已被报道^[4,15-22], 故本研究只对新化合物 **1** 进行体外抗炎活性筛选。

本实验参照文献方法^[23]展开研究。首先用浓度为 2、5、10、20、30、40 μmol/L 的化合物 **1** 刺激 RAW 264.7 细胞, 培养 24 h 后采用 MTT 法检测细胞活力; 然后在无显著毒性浓度范围内, 采用 Griess 试剂法来检测化合物 **1** 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 NO 释放量的影响, 用以评价其体外抗炎活性。实验取对数生长的 RAW 264.7 细胞以密度 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板中, 于 37℃、5%CO₂ 培养箱中培养 24 h, 弃上清。将细胞分为空白对照 (空白培养基)、模型组 (2.0 μg/mL LPS)、样品组 (2.0 μg/mL LPS+2、5、10、20、30、40 μmol/L 样品), 吸取上清液, 将样品以 50 μL/孔加至 96 孔板中, 再加入 Griess Reagent I 和 Griess Reagent II 试剂, 继续培养 10 min 后, 于 540 nm 波长下测定吸光度 (A) 值, 根据标准曲线计算样品中的 NO 浓度。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{模型}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{模型}} - A_{\text{空白}})$$

实验结果显示, 化合物 **1** 在浓度 2~40 μmol/L 对 RAW 264.7 细胞无显著毒性, 化合物 **1** 在 2、5、10、20、30、40 μmol/L 的抑制率分别为 (5.02 ± 4.34) %、(13.80 ± 3.76) %、(30.11 ± 2.17) %、(38.90 ± 3.75) %、(48.93 ± 3.55) %、(55.21 ± 3.76) %, IC₅₀ 值为 (31.15 ± 2.30) μmol/L, 表明化合物 **1** 具有一定的抗炎活性。

5 讨论

本研究从艾绒醋酸乙酯提取物中分离鉴定了 13 个化合物, 包括 4 个倍半萜类化合物 (**1~4**)、8 个黄酮类化合物 (**5~8**、**10~13**)、1 个色原酮类化合物 (**9**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **4** 为首次从菊科植物中分离得到。文献报道艾叶有显著的抗炎活性^[24], 艾绒和艾叶的化学成分类型相似^[25]。本研究从艾绒中分离鉴定的已知单体化合物也被报道有较好的抗炎活性^[4,15-22], 故本研究仅对新化合物进行了体外抗炎活性评价。结果显示化合物 **1** 能够明显抑制 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 NO 生成量, 且呈剂量相关性, 表明化合物 **1** 具有抗炎活性。本研究丰富了天然产物的数据库, 进一步加深对艾灸疗法的主要材料艾绒的认识, 为艾绒进一步的开发利用提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kuang J J, Tian Z Y, Wang D, *et al.* Online detection of the volatile intermediates evolved from moxa floss pyrolysis with photoionization mass spectrometry [J]. *J Anal Applied Pyrol*, 2022, doi: 10.1016/j.jaap.2022.105737.
- [2] 单帅, 姚小强, 周亚婕, 等. 艾灸治疗类风湿关节炎研究进展 [J]. 河南中医, 2023, 43(12): 1925-1930.
- [3] Zan K, Chen X Q, Fu Q, *et al.* 1, 10-secoguaianolides from *Artemisia anomala* (Asteraceae) [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2010, 38(3): 431-434.
- [4] Sadhu S K, Hirata K, Li X F, *et al.* Flavonoids and sesquiterpenoids, constituents from *Eupatorium capillifolium*, found in a screening study guided by cell growth inhibitory activity [J]. *J Nat Med*, 2006, 60(4): 325-328.
- [5] 夏志云, 黄智霖, 刘涛, 等. 艾草中倍半萜类化学成分的分离和结构鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2023, 33(2): 98-107.
- [6] Li Y, Ni Z Y, Zhu M C, *et al.* Millifolides A-C. new 1, 10-seco-guaianolides from the flowers of *Achillea millefolium* [J]. *Z Für Naturforschung B*, 2012, 67(5): 438-446.
- [7] Tashenov E O, Dzhalnakhbetova R I, Smagulova F M, *et al.* Cirsilineol and cubreuva lactone from *Artemisia umbrosa* and their biological activity [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(1): 97-98.
- [8] 闫建昆, 张翔宇, 石旭柳, 等. 杜仲叶中黄酮类化学成分研究 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(4): 599-604.
- [9] Garayev E, di Giorgio C, Herbette G, *et al.* Bioassay-guided isolation and UHPLC-DAD-ESI-MS/MS quantification of potential anti-inflammatory phenolic compounds from flowers of *Inula montana* L. [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 226: 176-184.
- [10] 张树军, 马耀玲, 王金兰, 等. 艾蒿化学成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1906-1914.
- [11] 王丽艳, 邢凤兰, 高春林, 等. 野火球的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(11): 1776-1779.
- [12] Glasl S, Mucaji P, Werner I, *et al.* Sesquiterpenes and flavonoid aglycones from a Hungarian taxon of the *Achillea millefolium* group [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2002, 57(11/12): 976-982.
- [13] Fatope M O, Al-Burtomani S K S, Ochei J O, *et al.* Muscanone: A 3-O-(1'', 8'', 14''-trimethylhexadecanyl) naringenin from *Commiphora wightii* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(8): 1251-1255.
- [14] 温晶, 史海明, 刘艳芳, 等. 刘寄奴黄酮类成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(14): 1827-1830.
- [15] 于玲玲, 宁德生, 符毓夏, 等. 尖尾枫化学成分及其

- 抗炎活性研究 [J]. 广西植物, 2021, 41(11): 1875-1881.
- [16] 杨刚, 崔小燕, 张佳雄, 等. 东紫苏化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(12): 3777-3784.
- [17] 匡维米, 刘理燕, 潘洁, 等. 云南蓍的黄酮类成分及其体外抗炎活性研究 [J]. 中药材, 2023, 46(4): 871-877.
- [18] Yu Z, Tang L, Chen L F, *et al.* Capillarisin suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in BV2 microglial cells by suppressing TLR4-mediated NF- κ B and MAPKs signaling pathway [J]. *Neurochem Res*, 2015, 40(6): 1095-1101.
- [19] Duan X M, Li J, Cui J X, *et al.* Chemical component and *in vitro* protective effects of *Matricaria chamomilla* (L.) against lipopolysaccharide insult [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 296: 115471.
- [20] You L J, Wang Z, Kang Y L, *et al.* Experimental investigation of porosity and permeability change caused by salting out in tight sandstone gas reservoirs [J]. *J Nat Gas Geosci*, 2018, 3(6): 347-352.
- [21] Guo P L, Zeng M N, Wang S C, *et al.* Eriodictyol and homoeriodictyol improve memory impairment in A β ₂₅₋₃₅-induced mice by inhibiting the NLRP3 inflammasome [J]. *Molecules*, 2022, 27(8): 2488.
- [22] 徐海卫. 艾叶黄酮异泽兰黄素对运动损伤大鼠炎症和抗氧化系统的影响 [J]. 分子植物育种, 2023, 21(13): 4414-4420.
- [23] Mohamed A E-H H, El-Sayed M A, Hegazy M-E F, *et al.* Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba* [J]. *Records Nat Prods*, 2010, 4: 1-25.
- [24] 刘涛, 廖晓凤, 吴燕婷, 等. 艾叶有效成分抗炎作用及其机制的研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(3): 449-454.
- [25] 武娟. 艾绒的鉴定、质量分析及蕲艾绒分级标准研究 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2020.

[责任编辑 王文倩]