

• 化学成分 •

三七根茎中黄酮类成分及其抗血小板聚集活性研究

孙淼杰¹, 王艳林², 韩欣桐¹, 杨迪¹, 杨杰¹, 冉小库¹, 张慧¹, 王添敏^{1*}

1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600

2. 文山苗乡三七科技有限公司, 云南 文山 663108

摘要: 目的 研究三七 *Panax notoginseng* 根茎中的黄酮类成分及其抗血小板聚集活性。方法 采用 AB-8 大孔树脂、硅胶、ODS 柱色谱以及制备型高效液相色谱等分离技术对三七根茎中黄酮类成分进行分离纯化, 运用核磁共振、质谱等波谱技术和化学方法对分离的化合物进行结构鉴定, 并对分离得到的化合物进行抗血小板聚集活性评价。结果 从三七根茎中分离得到 8 个黄酮类化合物, 分别鉴定为槲皮素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖基-3'-*O*- β -D-葡萄糖苷 (1)、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 (2)、槲皮素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 (3)、山柰酚-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 (4)、山柰酚-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 (5)、异鼠李素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 (6)、槲皮素-3-*O*- β -D-半乳糖苷 (7)、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷 (8)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为三七黄酮苷; 化合物 6 的波谱数据为首次报道, 化合物 5 和 6 为首次从五加科中分离得到, 化合物 7 和 8 为首次从三七中分离得到。发现三七中黄酮苷的 C-3 位直接相连的六碳糖为半乳糖是其生物合成的特异性。体外抗血小板聚集测定结果表明化合物 1~7 均具有一定的抗血小板聚集活性。

关键词: 三七; 黄酮; 生物合成的特异性; 抗血小板聚集; 三七黄酮苷; 山柰酚-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷; 异鼠李素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷; 槲皮素-3-*O*- β -D-半乳糖苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)05-1500-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.002

Flavonoids from rhizomes of *Panax notoginseng* and their anti-platelet aggregation activitySUN Miaojie¹, WANG Yanlin², HAN Xintong¹, YANG Di¹, YANG Jie¹, RAN Xiaoku¹, ZHANG Hui¹, WANG Tianmin¹

1. College of Traditional Chinese Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

2. Wenshan Miaoxiang Sanqi Technology Co., Ltd., Wenshan 663108, China

Abstract: Objective To study the flavonoids in the rhizomes of *Panax notoginseng* and their antiplatelet aggregation activity. **Methods** AB-8 macroporous resin, silica gel, ODS column chromatography and preparative high performance liquid chromatography were used to separate and purify the flavonoids in the rhizomes of *P. notoginseng*. Their structures were elucidated by spectroscopic and chemical analysis, especially NMR and MS. Additionally, the antiplatelet aggregation activity of the isolated compounds was evaluated. **Results** Eight flavonoids were isolated and identified as quercetin-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactosyl-3'-*O*- β -D-glucoside (1), quercetin-3-*O*- β -D-glucosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside (2), quercetin-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside (3), kaempferol-3-*O*- β -D-glucosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside (4), kaempferol-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside (5), isorhamnetin-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside (6), quercetin-3-*O*- β -D-galactoside (7), quercetin-3-*O*- β -D-glucoside (8). **Conclusion** Compound 1 is a new flavonoid named notoginsenosylflavoside. The spectral data for compound 6 were reported for the

收稿日期: 2024-12-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81703658); 辽宁省教育厅科研平台建设项目 (LJ232410162066); 辽宁省科技厅联合基金面上项目 (2024-MSLH-291)

作者简介: 孙淼杰, 硕士研究生。E-mail: 2168595110@qq.com

*通信作者: 王添敏, 教授, 从事中药品质评价与药效物质基础研究。Tel: (0411)85890138 E-mail: wang_tm@163.com

first time. Moreover, compounds **5** and **6** were isolated from *Araliaceae* family for the first time, whereas compounds **7** and **8** were isolated from *P. notoginseng* for the first time. The specificity of flavonoids biosynthesis in *P. notoginseng* was firstly discovered. Specifically, the hexose directly connected to the C-3 position of flavonoid was galactose. The *in vitro* anti-platelet aggregation assay indicated that compounds **1**~**7** exhibited anti-platelet aggregation activity with different inhibition ratios.

Keywords *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; flavonoids; specificity of biosynthesis; anti-platelet aggregation; notoginsenoside; kaempferol-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside; isorhamnetin-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside; quercetin-3-*O*- β -D-galactoside

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为五加科重要的药用植物, 其干燥根及根茎为名贵中药三七, 具有散瘀止血、消肿定痛等功效^[1]。皂苷是三七中的主要活性成分, 相较于皂苷, 三七中黄酮含量较低。目前对三七根及根茎中黄酮的分离鉴定研究较少, 仅从三七绒根中分离得到槲皮素和槲皮素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷, 从三七茎叶中分离得到黄酮较多^[2-9]。而黄酮作为自然界中广泛存在的一类天然产物, 具有防治心脑血管疾病、抗氧化、抗炎、抗肿瘤、调血脂等生物活性^[10-12], 因此有必要对三七根及根茎中的黄酮类成分进行深入研究。

本团队前期通过超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱从三七中分析鉴别了 12 种黄酮苷类成分, 并推测黄酮苷 C-3 位直接相连的糖为半乳糖, 这可能是三七根及根茎中黄酮苷生物合成的特异性^[13]。为了证明以上推测并进一步分离鉴定三七根及根茎中黄酮类成分, 以黄酮含量较高的三七根茎为研究对象, 对其中黄酮类成分进行系统地分离和鉴定, 共分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为槲皮素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖基-3'-*O*- β -D-葡萄糖苷 [quercetin-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactosyl-3'-*O*- β -D-glucoside, **1**]、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 [quercetin-3-*O*- β -D-glucosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside, **2**]、槲皮素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 [quercetin-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside, **3**]、山柰酚-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 [kaempferol-3-*O*- β -D-glucosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside, **4**]、山柰酚-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 [kaempferol-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside, **5**]、异鼠李素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 [isorhamnetin-3-*O*- β -D-xylosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactoside, **6**]、槲皮素-3-*O*- β -D-半乳糖苷 (quercetin-3-*O*- β -D-galactoside, **7**)、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷 (quercetin-3-*O*- β -D-glucoside, **8**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物

6 的波谱数据为首次报道, 化合物 **5** 和 **6** 为首次从五加科中分离得到, 化合物 **7** 和 **8** 为首次从三七中分离得到。体外抗血小板聚集测定结果表明化合物 **1**~**7** 均具有不同程度的抗血小板聚集活性。

1 仪器与材料

Bruker Avance III 600 核磁共振波谱仪 (德国布鲁克公司); Agilent 1290 型超高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); Agilent 6550 型四极杆飞行时间质谱仪 (美国安捷伦公司); pure C-850 制备型高效液相色谱仪 (瑞士步琦公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); UV-1750 型紫外分光光度计 (日本岛津公司); X-5C⁺ 显微热分析仪 (上海爱慧氏科学仪器有限公司); FTIR-850 型傅里叶变换红外光谱仪 (天津港东科技发展股份有限公司); AG 800 型全自动血小板聚集仪 (山东泰利信医疗科技有限公司); SY-2000 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); FW 100 型高速粉碎机 (天津泰斯特仪器有限公司); KQ-500 DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 半制备型色谱柱 YMC-Pack ODS-A (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m, 日本株式会社); 半制备型色谱柱 Ultimate LP-C₁₈ (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m, 上海月旭科技股份有限公司)。

ODS 柱色谱填料 (北京绿百草科技发展有限公司); 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); AB-8 大孔树脂 (北京索莱宝科技有限公司); 去离子水 (赛维尔生物科技有限公司); 乙腈 (色谱纯, 德国默克公司); 纯净水 (大连娃哈哈饮用水有限公司); 其他实验所用试剂均为分析纯级别 (天津科密欧化学试剂有限公司); 二磷酸腺苷 (ADP, 山东泰利信医疗科技有限公司); 1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮 (北京索莱宝科技有限公司); 磷酸二氢钠, 磷酸氢二钠 (上海麦克林生化科技有限公司); D-葡萄糖 (批号 S17HB195198, 质量分数 $\geq$ 98%), D-半乳糖 (批号 Z22J9H64187, 质量分数 $\geq$ 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司; D-木糖 (批号 C17176400, 质量分

数 $\geq 99\%$) 购自上海麦克林生化科技有限公司; L-阿拉伯糖(批号 24240912002, 质量分数 $\geq 98\%$), 阿司匹林(批号 24240729002, 质量分数 $\geq 98\%$) 购自北京索莱宝科技有限公司。

SD 大鼠, 雄性, SPF 级(辽宁长生生物技术有限公司), 体质量 140~160 g。动物许可证号为 SCXK(辽) 2020-0001, 所有动物实验遵循辽宁中医药大学有关实验动物管理和使用的规定。

三七根茎分别于 2021 年 12 月、2022 年 3 月采自云南文山州、红河州等多个三七栽培基地, 基地信息已在前期报道中列出^[13]。样品经辽宁中医药大学中药鉴定教研室王添敏教授鉴定为五加科植物三七 *P. notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的根茎, 凭证标本(CDSQ202112Z) 保存于辽宁中医药大学中药鉴定实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

取干燥三七根茎 5 kg, 粉碎成粗粉, 用 50 L 的 75%乙醇浸泡 12 h 后回流提取 2 次, 每次 90 min, 合并提取液减压浓缩得粗浸膏。粗浸膏用水混悬, 石油醚(60~90 °C) 萃取 3 次除去脂溶性成分, 水层回收溶剂后得到水溶性提取物。水溶性提取物采用 AB-8 大孔树脂柱色谱对不同极性成分进行分离, 以水及 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%乙醇依次洗脱, 通过薄层色谱检识后合并得到 11 个组分(Fr. A~K)。通过高效液相色谱分析发现黄酮类成分主要被富集在 20%~30%乙醇洗脱的组分 Fr. B 中。Fr. B 采用 ODS 柱色谱(甲醇-0.1%甲酸水 55:45, 20 mL/min) 分离, 得到 3 个组分(Fr. B1~B3)。Fr. B1 经半制备液相色谱(甲醇-水 42:58, 3 mL/min) 分离, 得到 12 个组分(Fr. B1A~B1L)。Fr. B1D 经半制备液相色谱(甲醇-0.1%甲酸水 34:66, 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 1(10.9 mg, $t_R=16.6$ min); Fr. B1F 经半制备液相色谱(甲醇-0.1%甲酸水 35:65, 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 2(42.7 mg, $t_R=18.2$ min); Fr. B1H 经半制备液相色谱(甲醇-0.1%甲酸水 34:66, 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 3(819.6 mg, $t_R=25.3$ min); Fr. B1I 经半制备液相色谱(甲醇-0.1%甲酸水 34:66, 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 4(50.2 mg, $t_R=29.5$ min); Fr. B1K 经半制备液相色谱(甲醇-0.5%甲酸水 34:66, 3 mL/min) 分离得到化合物 5(89.3 mg, $t_R=44.6$ min) 和 6(44.4

mg, $t_R=47.7$ min); Fr. B1L 经半制备液相色谱(甲醇-0.5%甲酸水 34:66, 3 mL/min) 分离得到化合物 7(20.4 mg, $t_R=47.8$ min) 和 8(2.7 mg, $t_R=50.1$ min)。

2.2 化合物的酸水解及衍生化反应

取待测化合物 1 mg, 加入 2 mL 的 2 mol/L 盐酸溶液, 混匀, 密封后在 80 °C 下水解 1 h^[14]。将水解液蒸干溶剂, 加甲醇反复蒸干至中性。残渣加 2 mL 水溶解后用乙酸乙酯萃取, 取水层 1 mL 加入 400 μ L 的 0.3 mol/L 氢氧化钠溶液和 400 μ L 的 0.5 mol/L 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮溶液, 混匀, 密封后在 70 °C 水浴下反应 40 min, 取出冷却至室温, 加入 400 μ L 的 0.3 mol/L 盐酸溶液调至中性。反应液用氯仿萃取 3 次, 取水层经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 通过高效液相色谱对糖衍生物进行分离和检测, 与糖标准品的衍生物对照。

2.3 糖衍生物分离和检测的色谱条件

Agilent zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm mm, 5 μ m); 流动相为乙腈(A)-0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6.8, B), 梯度洗脱(0~5 min, 15%~18% A; 5~40 min, 18% A); 体积流量 0.8 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 10 μ L。

2.4 体外抗血小板聚集活性研究

随机取 10 只 SD 大鼠, 0.12 mol/L 戊巴比妥钠(60 mg/kg) 麻醉, 腹主动脉取血, 以 3.8%枸橼酸钠 1:9 抗凝。取抗凝血液样本离心 10 min (160 $\times$ g), 取上层液即得富血小板血浆(PRP)。将吸取 PRP 后剩余血液离心 10 min (2 000 $\times$ g), 取上层液即得乏血小板血浆(PPP), 10 只大鼠的 PRP 和 PPP 分别混合后用于化合物的体外抗血小板聚集活性检测, 3 h 内完成。

开机预热使血小板聚集仪至 37 °C, 反应体系为 300 μ L, 分别精密加入 240 μ L 的 PRP 和 PPP 于对应的双联杯中, PRP 和 PPP 通道分别加入测试化合物 60 μ L, 空白组加入等体积 0.1% DMSO 的去离子水溶液, 在 37 °C 水浴中温育 10 min 后放入测试通道, 加入 10 μ L ADP 诱导剂, 测定大鼠血小板 5 min 内的最大聚集率, 按照抑制率公式计算药物对血小板聚集的抑制率。

抑制率=(空白组最大聚集率-给药组最大聚集率)/空白组最大聚集率

3 结构鉴定

化合物 1: 黄色粉末, mp 146~148 °C; HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z : 757.187 0 [M-H]⁻

(计算值为 757.183 3), 确定该化合物的分子式为 $C_{32}H_{38}O_{21}$ 。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 217 (4.44), 268 (4.06), 354 (3.94)。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3386、2931、1651、1605、1504、1450、1358、1304、1203、1173、1072、818、648、602。在化合物 **1** 的 ^1H -NMR 谱中, 低场区化学位移为 δ_{H} 12.67 (1H, s) 的单峰氢信号提示化合物 **1** 的结构中含有酚羟基; 低场区有 3 组芳香氢信号 [δ_{H} 8.09 (1H, dd, $J=8.6, 2.2$ Hz), 7.79 (1H, d, $J=2.2$ Hz), 6.87 (1H, d, $J=8.6$ Hz)] 提示化合物 **1** 的结构中存在 1 个有 ABX 自旋耦合系统的芳环; 低场区还有 2 个 AB 耦合系统的芳香氢信号 [δ_{H} 6.50 (1H, d, $J=2.1$ Hz), 6.18 (1H, d, $J=2.1$ Hz)]; 化学位移为 δ_{H} 6.00~4.20 处出现 3 个糖的端基氢信号 [δ_{H} 5.72 (1H, d, $J=7.6$ Hz), 4.84 (1H, d, $J=7.4$ Hz), 4.54 (1H, d, $J=7.4$ Hz)], 表明化合物 **1** 的结构中连有 3 个糖。 ^{13}C -NMR 谱中共有 32 个碳信号, DEPT-135 谱显示 22 个碳信号, 包括 19 个次甲基碳信号和 3 个亚甲基碳信号。结合 ^1H -NMR 谱数据可知化合物 **1** 为连接 3 个糖的 3,5,7,3',4'-取代黄酮。酸水解衍生化分析结果表明化合物 **1** 结构中的 3 个糖分别为 *D*-半乳糖 ($t_{\text{R}}=26.86$ min)、*D*-木糖 ($t_{\text{R}}=28.20$ min) 和 *D*-葡萄糖 ($t_{\text{R}}=24.28$ min); ^{13}C -NMR 谱中糖上碳的化学位移也与文献中相应糖的化学位移吻合^[15-16]。化合物 **1** 的 HMBC 谱显示化学位移为 δ_{H} 5.72 (1H, d, $J=7.6$ Hz) 的半乳糖端基氢信号与化学位移为 δ_{C} 133.6 (C-3) 的碳信号存在相关, 化学位移为 δ_{H} 4.54 (d, $J=7.4$ Hz) 的木糖端基氢信号与化学位移为 δ_{C} 80.4 (C-2'') 的碳信号有相关, 化学位移为 δ_{H} 4.84 (d, $J=7.4$ Hz) 的葡萄糖端基氢信号与化学位移为 δ_{C} 145.8 (C-3') 的碳信号有相关。因此, 化合物 **1** 的结构被确定为槲皮素-3-*O*- β -*D*-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-半乳糖基-3'-*O*- β -*D*-葡萄糖苷, 为新化合物, 其化学结构和主要 HMBC 相关如图 1 所示, ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据见表 1。

化合物 **2**: 黄色粉末; HR-ESI-MS m/z 625.142 9 [M-H] $^-$, 分子式为 $C_{27}H_{30}O_{17}$ 。酸水解产生 *D*-葡萄糖和 *D*-半乳糖。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.68 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 6.84 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-6), 5.66 (1H, d, $J=7.6$ Hz, gal-H-1''), 3.77 (1H, m, H-2''), 3.62 (1H, m, H-3''), 3.68 (1H, m, H-4''), 3.15 (1H, m, H-5''), 3.48 (1H, overlapped, H-6''a), 3.24 (1H, overlapped,

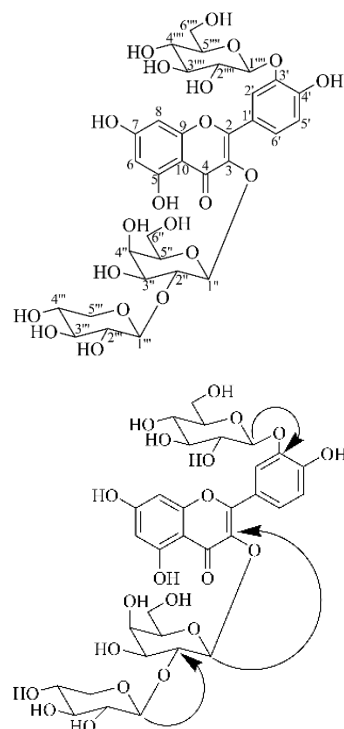


图 1 化合物 **1** 的化学结构和主要 HMBC 相关 (H $\rightarrow$ C)
Fig. 1 Chemical structure and key HMBC correlations (H $\rightarrow$ C) of compound **1**

H-6''b), 4.57 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-1'''-glc), 3.19 (1H, m, H-2'''), 3.34 (1H, overlapped, H-3'''), 3.16 (1H, m, H-4'''), 3.57 (1H, m, H-5'''), 3.72 (1H, brs, H-6'''a), 3.50 (1H, overlapped, H-6'''b); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.9 (C-2), 133.5 (C-3), 177.9 (C-4), 161.7 (C-5), 99.1 (C-6), 164.5 (C-7), 93.9 (C-8), 156.7 (C-9), 104.3 (C-10), 121.6 (C-1'), 116.4 (C-2'), 145.3 (C-3'), 149.0 (C-4'), 115.8 (C-5'), 122.6 (C-6'), 98.8 (C-1''-gal), 81.3 (C-2''), 73.8 (C-3''), 68.0 (C-4''), 76.3 (C-5''), 60.4 (C-6''), 104.8 (C-1'''-glc), 74.9 (C-2'''), 77.2 (C-3'''), 70.0 (C-4'''), 77.0 (C-5'''), 61.1 (C-6'''). 以上数据与文献报道一致^[4], 鉴定化合物 **2** 为槲皮素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-半乳糖苷。

化合物 **3**: 黄色粉末; HR-ESI-MS m/z 595.132 5 [M-H] $^-$, 分子式为 $C_{26}H_{28}O_{16}$ 。酸水解产生 *D*-木糖和 *D*-半乳糖。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.77 (1H, dd, $J=8.5, 2.3$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-2'), 6.83 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 5.71 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1''-gal), 3.77 (1H, m, H-2''), 3.63 (1H, m, H-3''), 3.68 (1H, m, H-4''), 3.14 (1H, m, H-5''), 3.42 (1H, m, H-6''a), 3.29 (1H, m, H-6''b), 4.56 (1H, d, $J=$

表 1 化合物 1 和 6 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据 (600/150 MHz, DMSO-*d*₆)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compounds 1 and 6 (600/150 MHz, DMSO-*d*₆)

碳位	1		6	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
2		155.0		156.2
3		133.6		133.4
4		177.8		177.8
5		161.6		161.7
6	6.18 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz)	99.2	6.20 (brs)	99.1
7		165.1		164.6
8	6.50 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz)	94.3	6.45 (brs)	94.1
9		156.7		156.8
10		104.1		104.4
1'		121.5		121.6
2'	7.79 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz)	116.9	7.95 (d, <i>J</i> = 1.9 Hz)	113.8
3'		145.8		147.5
4'		150.6		150.0
5'	6.87 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz)	116.2	6.91 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz)	115.7
6'	8.09 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2.2 Hz)	126.5	7.60 (dd, <i>J</i> = 8.5, 1.9 Hz)	122.7
1''	5.72 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz)	98.7	5.73 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz)	99.0
2''	3.77 (m)	80.4	3.78 (m)	79.7
3''	3.61 (m)	74.1	3.65 (m)	74.2
4''	3.67 (m)	68.1	3.69 (m)	68.3
5''	3.14 (m)	76.4	3.11 (m)	76.5
6''	3.42 (m), 3.26 (m)	60.3	3.44 (overlapped), 3.24 (overlapped)	60.6
1'''	4.54 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz)	105.1	4.58 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz)	104.7
2'''	3.05 (m)	74.5	3.06 (m)	74.3
3'''	3.35 (m)	76.4	3.36 (overlapped)	76.4
4'''	3.27 (m)	69.9	3.27 (overlapped)	69.8
5'''	3.72 (m), 3.06 (m)	66.2	3.78 (m), 3.05 (m)	65.9
1''''	4.84 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz)	102.8		
2''''	3.21 (m)	73.9		
3''''	3.33 (m)	77.6		
4''''	3.15 (m)	70.2		
5''''	3.44 (m)	76.7		
6''''	3.72 (m), 3.56 (m)	61.2		
3'-OCH ₃			3.85 (s)	56.4

7.4 Hz, H-1'''-xyl), 3.08 (1H, m, H-2'''), 3.36 (1H, m, H-3'''), 3.27 (1H, m, H-4'''), 3.70 (1H, m, H-5'''a), 3.06 (1H, brs, H-5'''b); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 155.7 (C-2), 133.5 (C-3), 177.9 (C-4), 161.7 (C-5), 99.1 (C-6), 164.6 (C-7), 93.9 (C-8), 156.7 (C-9), 104.3 (C-10), 121.6 (C-1'), 116.2 (C-2'), 145.4 (C-3'), 149.0 (C-4'), 115.7 (C-5'), 122.7 (C-6'), 98.8 (C-1''-gal), 80.3 (C-2''), 74.1 (C-3''), 68.2 (C-4''), 76.7 (C-5''), 60.4 (C-6''), 105.1 (C-1'''-xyl), 74.4 (C-2'''), 76.4 (C-3'''), 69.9 (C-

4'''), 66.1 (C-5'''). 以上数据与文献报道一致^[15], 鉴定化合物 **3** 为槲皮素-3-*O*- β -*D*-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-半乳糖苷。

化合物 **4**: 黄色粉末; HR-ESI-MS *m/z* 609.148 2 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₇H₃₀O₁₆。酸水解产生 *D*-葡萄糖和 *D*-半乳糖。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.08 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.36 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.16 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 5.66 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''-gal),

3.80 (1H, m, H-2''), 3.63 (1H, m, H-3''), 3.70 (1H, m, H-4''), 3.19 (1H, m, H-5''), 3.49 (1H, m, H-6''a), 3.30 (1H, m, H-6''b), 4.57 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'''-glc), 3.21 (1H, m, H-2'''), 3.36 (1H, m, H-3'''), 3.18 (1H, m, H-4'''), 3.60 (1H, m, H-5'''), 3.75 (1H, m, H-6'''a), 3.54 (1H, m, H-6'''b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 158.3 (C-2), 134.8 (C-3), 179.7 (C-4), 162.8 (C-5), 101.5 (C-6), 165.7 (C-7), 94.7 (C-8), 158.8 (C-9), 104.5 (C-10), 122.6 (C-1'), 132.4 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 161.4 (C-4'), 99.8 (C-1''-gal), 79.8 (C-2''), 74.7 (C-3''), 69.9 (C-4''), 76.6 (C-5''), 61.8 (C-6''), 105.6 (C-1'''-glc), 75.3 (C-2'''), 78.0 (C-3'''), 71.2 (C-4'''), 77.7 (C-5'''), 62.5 (C-6'''). 以上数据与文献报道一致^[4], 鉴定化合物 **4** 为山柰酚-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷, 即人参黄酮苷。

化合物 **5**: 黄色粉末; HR-ESI-MS m/z 579.137 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{15}$ 。酸水解产生 *D*-木糖和 *D*-半乳糖。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.12 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.69 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''-gal), 3.73 (1H, m, H-2''), 3.62 (1H, m, H-3''), 3.68 (1H, m, H-4''), 3.14 (1H, m, H-5''), 3.42 (1H, m, H-6''a), 3.27 (1H, m, H-6''b), 4.56 (d, $J = 7.4$ Hz, H-1'''-xyl), 3.07 (1H, m, H-2'''), 3.36 (1H, m, H-3'''), 3.28 (1H, m, H-4'''), 3.72 (1H, m, H-5'''a), 3.06 (1H, m, H-5'''b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 155.7 (C-2), 133.3 (C-3), 177.9 (C-4), 161.7 (C-5), 99.2 (C-6), 164.9 (C-7), 94.1 (C-8), 156.7 (C-9), 104.2 (C-10), 121.3 (C-1'), 131.4 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 160.5 (C-4'), 98.7 (C-1''-gal), 80.2 (C-2''), 74.2 (C-3''), 68.2 (C-4''), 76.7 (C-5''), 60.4 (C-6''), 105.1 (C-1'''-xyl), 74.4 (C-2'''), 76.3 (C-3'''), 69.9 (C-4'''), 66.2 (C-5'''). 以上数据与文献报道一致^[17], 鉴定化合物 **5** 为山柰酚-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷。

化合物 **6**: 黄色粉末; HR-ESI-MS m/z 609.148 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ 。化合物 **6** 的核磁数据与槲皮素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷 (**3**) 数据比较接近, 仅苷元信号部分存在差异, 与化合物 **3** 相比, 化合物 **6** 有 1 个甲氧基的碳信号 (δ_{C} 56.4) 和氢信号 [δ_{H} 3.85 (3H, s)]。化合物 **6** 的 HMBC 谱显示化学位移为 δ_{H} 3.85 (3H, s) 的甲氧基氢信号与化学位移为 δ_{C} 147.5 (C-3') 的碳信号有相

关, 证明甲氧基连接在黄酮苷元的 C-3' 位。酸水解产生 *D*-木糖和 *D*-半乳糖。因此, 化合物 **6** 的结构被鉴定为异鼠李素-3-*O*- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷, 该化合物的波谱数据为首次报道, $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据见表 1。

化合物 **7**: 黄色粉末; HR-ESI-MS m/z 463.089 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ 。酸水解产生 *D*-半乳糖。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.64 (1H, dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, H-6'), 7.56 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.81 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, brs, H-8), 6.18 (1H, brs, H-6), 5.38 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''-gal), 3.32 (1H, m, H-2''), 3.28 (1H, m, H-3''), 3.37 (1H, m, H-4''), 3.46 (1H, m, H-5''), 3.65 (1H, brs, H-6''a), 3.60 (1H, m, H-6''b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.5 (C-2), 133.8 (C-3), 177.8 (C-4), 161.6 (C-5), 99.4 (C-6), 165.5 (C-7), 94.1 (C-8), 156.8 (C-9), 104.0 (C-10), 121.4 (C-1'), 116.5 (C-2'), 145.5 (C-3'), 149.2 (C-4'), 115.7 (C-5'), 122.3 (C-6'), 102.3 (C-1''-gal), 71.7 (C-2''), 73.7 (C-3''), 68.4 (C-4''), 76.5 (C-5''), 60.6 (C-6''), 以上数据与文献报道一致^[18], 鉴定化合物 **7** 为槲皮素-3-*O*- β -D-半乳糖苷, 即金丝桃苷。

化合物 **8**: 黄色粉末; HR-ESI-MS m/z 463.086 5 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ 。酸水解产生 *D*-葡萄糖。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.67~7.48 (2H, m, H-2', 6'), 6.81 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 6.33 (1H, brs, H-8), 6.12 (1H, brs, H-6), 5.44 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''-glc), 3.80~3.06 (6H, overlapped, H-2''~6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 156.3 (C-2), 133.6 (C-3), 177.5 (C-4), 161.6 (C-5), 99.7 (C-6), 166.4 (C-7), 94.2 (C-8), 156.9 (C-9), 104.2 (C-10), 121.3 (C-1'), 116.6 (C-2'), 145.5 (C-3'), 149.4 (C-4'), 115.7 (C-5'), 122.0 (C-6'), 101.6 (C-1''-glc), 74.6 (C-2''), 77.0 (C-3''), 70.4 (C-4''), 78.0 (C-5''), 61.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[19], 鉴定化合物 **8** 为槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷, 即异槲皮苷。

4 体外抗血小板聚集活性评价

采用阿司匹林为阳性对照药, 对三七根茎中分离得到的含量较多的化合物 **1**~**7** 进行体外抗血小板聚集活性测定, 结果表明所测化合物均有不同程度的抗血小板聚集作用 (表 2)。

5 讨论

本研究通过多种分离手段对三七根茎中黄酮类成分进行了系统研究, 从中分离鉴定了 8 个黄酮

表 2 化合物 1~7 的体外抗血小板聚集活性
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Anti-platelet aggregation activity of compounds
1—7 *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度/ (mg mL ⁻¹)	聚集率/%	抑制率/%
对照	—	51.33±1.15	—
阿司匹 林	1	11.33±0.58	77.92
1	5	39.21±1.53	30.92
2	5	45.14±0.58	12.06
3	5	25.33±0.58	50.65
4	5	17.00±2.00	66.88
5	5	25.67±2.52	50.00
6	5	25.28±2.08	50.75
7	2	40.67±2.89	20.78

类化合物,其中化合物 1 为新化合物,化合物 6 的波谱数据为首次报道,化合物 5 和 6 为首次从五加科植物中分离得到,化合物 7 和 8 为首次从三七中分离得到。化合物的结构鉴定结果表明除化合物 8 (异槲皮苷)外,分离得到的黄酮苷 C-3 位直接相连的六碳糖均为半乳糖。目前,文献报道从三七全株中分离得到的黄酮中,大部分 C-3 位直接相连的六碳糖也为半乳糖^[2-9]。在本次分离研究过程中发现异槲皮苷(8)在三七根茎中的含量很低;同时并未发现和分离得到文献中报道三七叶中含有的槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖苷(白麻苷)^[3],却分离得到其同分异构体槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-半乳糖苷(2),两者的区别仅为 C-3 位连接的糖不同。HPLC-MS 分析也显示三七根茎中异槲皮苷的含量很低,几乎未检测到白麻苷^[13]。因此,可以证明课题组前期的推测,即三七中黄酮苷尤其是双糖和三糖苷的 C-3 位直接相连的六碳糖多为半乳糖而非葡萄糖,这种对糖的特异性选择体现了三七黄酮生物合成的特异性。植物生物合成的特异性与其生物合成的酶和基因相关,黄酮苷的糖链由尿苷二磷酸糖基转移酶(UGTs)催化合成,目前三七黄酮合成中的 UGTs 并未获得完全解析^[20-22]。本结果发现的三七黄酮糖链生物合成的特异性将为三七黄酮合成的 UGTs 研究提供重要信息。

对化合物 1~7 进行体外抗血小板聚集活性测试,结果表明 7 个化合物对 ADP 诱导的血小板聚集具有不同程度的抑制作用,其中化合物 4 的抑制

作用最强。据文献报道,化合物 4 和 7 还具有抗氧化和抗炎活性^[23-24],而三七及其提取物在抗炎和抗氧化方面具有较强的药理活性^[25],所以黄酮类成分可能为三七发挥抗炎抗氧化作用的有效成分之一。此外化合物 2、4、7 具有神经保护活性^[26,27],化合物 3 具有治疗阿尔茨海默症的作用^[28],也将为三七治疗阿尔茨海默症的研究奠定基础。

本研究结果丰富了三七的化学成分研究,为三七中黄酮类成分的开发和利用提供了新的技术资料。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 108.
- [2] 魏均娴,王菊芬,张良玉,等. 三七的化学研究: I. 三七绒根的成份研究 [J]. 药学学报, 1980, 15(6): 359-364.
- [3] 魏均娴,王菊芬. 三七叶黄酮类成分的研究 [J]. 中药通报, 1987, 12(11): 33-35.
- [4] 郑莹,李绪文,桂明玉,等. 三七茎叶黄酮类成分的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(3): 176-178.
- [5] Wang T, Guo R X, Zhou G H, et al. Traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 188: 234-258.
- [6] Hong J, Hu J Y, Liu J H, et al. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids from *Panax notoginseng* flowers [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(16): 1260-1266.
- [7] 夏鹏国,张顺仓,梁宗锁,等. 三七化学成分的研究历程和概况 [J]. 中草药, 2014, 45(17): 2564-2570.
- [8] Huang J, Wang H, Yang X F, et al. Isolation and identification of flavonoids from buds of *Panax notoginseng* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2012, 23(8): 1060-1062.
- [9] 夏子怡,车晓青,李文,等. 基于双向调节药效的人参、西洋参和三七中药质量标志物研究 [J]. 世界中医药, 2023, 18(3): 421-424.
- [10] 俞洁,邹永鹏. 黄酮类化合物在动脉粥样硬化中的研究进展 [J]. 心血管康复医学杂志, 2024, 33(3): 347-350.
- [11] 王兰,曾禧,姚后宗,等. 雪层杜鹃中的黄酮类化合物及其抗氧化和抗炎活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(8): 1350-1356.
- [12] 林奕然,冯哲轩,胡思,等. 沙棘叶黄酮类化合物提取方法、纯化技术及其药理作用研究进展 [J]. 中南农业科技, 2024(5): 252-258.
- [13] 杨杰,王艳林,杨迪,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 和

- HPLC-DAD 的三七黄酮类成分定性定量研究 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(13): 3462-3471.
- [14] 汪汇, 温明椿, 姜宗德, 等. 不同茶类中黄酮醇苷酸水解条件的优化及酸水解前后 3 种黄酮醇含量的测定 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(21): 8390-8396.
- [15] 王昊, 夏明辉, 庞旭, 等. 荷叶中苷类成分的分离鉴定 [J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(5): 368-373.
- [16] Xie C, Veitch N C, Houghton P J, *et al.* Flavonoid glycosides and isoquinoline alkaloids from *Corydalis bungeana* [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(22): 3041-3047.
- [17] Haraguchi M, Motidome M, Gottlieb O R. Triterpenoid saponins and flavonol glycosides from *Phytolacca thyrsoiflora* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(7): 2291-2296.
- [18] 苑祥, 李震源, 梅丽娟, 等. 醉马草中黄酮类化学成分研究 [J]. 中草药, 2021, 53(4): 937-942.
- [19] 凌智辉, 肖蓓, 岳芊羽, 等. 荷叶黄酮分离鉴定及不同干燥方法对荷叶黄酮及荷叶碱含量影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(10): 1730-1736.
- [20] 聂锋, 侯茂奇, 赵嘉宁, 等. 三七中黄酮糖基转移酶的筛选与鉴定 [J]. 上海中医药大学学报, 2021, 35(6): 73-81.
- [21] Li J, Liu X, Gao Y R, *et al.* Identification of a UDP-Glucosyltransferase favouring substrate- and regio-specific biosynthesis of flavonoid glucosides in *Cyclocarya paliurus* [J]. *Phytochemistry*, 2019, 163: 75-88.
- [22] 刘伟, 王俊燚, 李萌, 等. 基于转录组测序的银杏类黄酮生物合成关键基因表达分析 [J]. 中草药, 2018, 49(23): 5633-5639.
- [23] Iannuzzi A M, Giacomelli C, De Leo M, *et al.* Antioxidant activity of compounds isolated from *Elaeagnus umbellata* promotes human gingival fibroblast well-being [J]. *J Nat Prod*, 2020, 83(3): 626-637.
- [24] 王萌玉. 木犀草苷、金丝桃苷标准物质研制及抗氧化活性研究 [D]. 天津: 天津理工大学, 2020.
- [25] 黄依丹, 成嘉欣, 石颖, 等. 近五年三七化学成分、色谱分析、三七提取物和药理活性的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(10): 2584-2596.
- [26] Kim Y, Park E J, Kim J, *et al.* Neuroprotective constituents from *Hedyotis diffusa* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(1): 75-78.
- [27] Xu X J, Pan T, Fan H J, *et al.* Neuroprotective effect of hyperoside in MPP⁺/MPTP-induced dopaminergic neurodegeneration [J]. *Metab Brain Dis*, 2023, 38(3): 1035-1050.
- [28] Choi R C Y, Zhu J T T, Wing L K, *et al.* A flavonol glycoside, isolated from roots of *Panax notoginseng*, reduces amyloid-beta-induced neurotoxicity in cultured neurons: Signaling transduction and drug development for Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 19(3): 795-811.

[责任编辑 王文倩]