

## 鲜用艾叶萜类成分及其抗炎活性研究

李齐激<sup>1,2</sup>, 李雨铭<sup>1</sup>, 王丽<sup>1</sup>, 周浪<sup>1</sup>, 陈发菊<sup>1,2</sup>, 杨小生<sup>1,2\*</sup> (1. 贵州省天然产物研究中心, 贵州省天然产物高效利用工程技术研究中心, 贵阳 550014; 2. 贵州医科大学, 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵阳 550025)

**摘要:**目的 研究新鲜艾叶 (*Artemisia argyi* Levi. et Vant.) 中萜类成分及其抗炎效果。方法 利用高效制备液相色谱等现代植物化学分离技术对新鲜艾叶体积分数 95% 乙醇提取物进行分离, 结合理化性质与质谱法 (MS)、核磁共振谱法 (NMR) 等数据鉴定结构。以脂多糖 (LPS) 诱导 RAW264.7 巨噬细胞释放一氧化氮 (NO) 抑制能力评价萜类物质的抗炎能力。结果 共分离 15 个萜类物质: artanomaloide (1)、dehydroleucodin (2)、tamaulipin-B acetate (3)、莫沙坦内酯 (4)、yomogin (5)、木香酸 (6)、costic acid methyl ester (7)、PBI (8)、(-)-3-hydroxy- $\beta$ -ionone (9)、pubinernoid A (10)、subamone (11)、artefrigin (12)、cassipourol (13)、3 $\beta$ -acetoxy-24-oxo-dammara-20, 25-diene (14)、dammara-20, 24-dien-3 $\beta$ -ol acetate (15), 其中化合物 1~12 抗炎活性 IC<sub>50</sub> 值介于 (1.27 ± 0.02) ~ (17.55 ± 0.13)  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。结论 鲜用艾叶中含有较为丰富的、具有明显抗炎活性的萜类物质, 其中化合物 3、7~14 均为首次从艾叶中分离, 该类成分有进一步在医药大健康产品中开发应用的潜能。

**关键词:** 艾叶; 鲜用; 萜类成分; 抗炎活性

doi: 10.11669/cpj.2024.19.004 中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2024)19-1807-06

Terpenoid Constituents from the Fresh-Used Leaves of *Artemisia argyi* and Their Anti-Inflammatory Activities

LI Qiji<sup>1,2</sup>, LI Yuming<sup>1</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, ZHOU Lang<sup>1</sup>, CHEN Faju<sup>1,2</sup>, YANG Xiaosheng<sup>1,2\*</sup> (1. Engineering Research Center for Efficient Utilization of Natural Products in Guizhou Province, Natural Products Research Center of Guizhou Province, Guiyang 550014, China; 2. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the terpenoid constituents from the fresh-used leaves of *Artemisia argyi* Levi. et Vant. and their anti-inflammatory activities. **METHODS** Modern phytochemical separation techniques such as high performance preparative liquid chromatography (HPLC) were used to isolate the 95% ethanol extract of the fresh leaves from *A. argyi* and to identify the structure by combining physicochemical properties with MS and NMR data. The anti-inflammatory activity of terpenoids was evaluated by the inhibitory ability of nitric oxide (NO) release from LPS-induced RAW264.7 macrophages. **RESULTS** Fifteen terpenoids were isolated from the fresh leaves of *A. argyi* and identified as artanomaloide (1), dehydroleucodin (2), tamaulipin-B acetate (3), moxartenolide (4), yomogin (5), costic acid (6), costic acid methyl ester (7), PBI (8), (-)-3-hydroxy- $\beta$ -ionone (9), pubinernoid A (10), subamone (11), artefrigin (12), cassipourol (13), 3 $\beta$ -acetoxy-24-oxo-dammara-20, 25-diene (14), dammara-20, 24-dien-3 $\beta$ -ol acetate (15). The IC<sub>50</sub> values of the anti-inflammatory activity of compounds 1-12 ranged from (1.27 ± 0.02) to (17.55 ± 0.13)  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . **CONCLUSION** The fresh leaves from *A. argyi* are more abundant in terpenoids with anti-inflammatory activity, among which compounds 3 and 7-14 are isolated for the first time, and this kind of components can be applied in the development of pharmaceutical and health products.

**KEY WORDS:** *Artemisia argyi*; fresh application; terpenoid; anti-inflammatory activity

**基金项目:** 贵州省科技创新能力建设专项资助 (黔科合服企[2020]4013 号); 贵州省天然产物高效利用工程研究中心项目资助 (黔财建[2019]303); 贵州食药生物资源可持续利用特色重点实验室项目资助 (黔教合 KY 字[2020]018)

**作者简介:** 李齐激, 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师 研究方向: 鲜药资源化学与利用 \* **通讯作者:** 杨小生, 男, 博士, 研究员, 博士生导师 研究方向: 天然药物化学 Tel: (0851)83809055

艾叶(*Artemisia argyi* Levl. et Vant.), 菊科多年生草本植物, 广布全国<sup>[1]</sup>。作为我国传统中药, 苗、布依、土家、傣等民族习用药, 具有温经止血, 散寒止痛, 主要用于治疗吐血, 衄血, 崩漏, 少腹冷痛, 经寒不调, 宫冷不孕等症<sup>[2]</sup>。鲜用艾叶始载《名医别录》用于止血、杀虫<sup>[3]</sup>, 随后《本草纲目》等载其捣汁用于咽喉肿痛<sup>[4]</sup>; 土家、布依、傣族鲜煎水服用于咽喉痛、慢性支气管炎等<sup>[5]</sup>。现代研究主要针对陈艾或干品开展, 主要含有黄酮、挥发油、萜类等化学成分, 在抗炎、抗氧化、抗病毒、抗菌等方面呈现出一定优势<sup>[6]</sup>; 其中抗炎活性物质以挥发油为主, Reinhardt等<sup>[7]</sup>发现艾叶中倍半萜内酯可通过抑制 T 细胞活性达到抗炎作用, Meng 等<sup>[8]</sup>揭示了鲜艾对于神经性皮炎具有很好的治疗效果。鉴于艾叶悠久的鲜用史, 以及现有研究未能较好支撑艾叶鲜用的现状, 本研究开展了新鲜艾叶的化学成分研究, 从中获得 15 个萜类成分: artanomaloide (1)、dehydroleucodin (2)、tamaulipin-B acetate (3)、moxartenolide (4)、yomogin (5)、costic acid (6)、costic acid methyl ester (7)、PBI (8)、(-)-3-hydroxy- $\beta$ -ionone (9)、pubinernoid A (10)、subamone (11)、artefrigin (12)、cassipourol (13)、3 $\beta$ -acetoxy-24-oxo-dammara-20, 25-diene (14)、dammara-20, 24-dien-3 $\beta$ -ol acetate (15); 其中化合物 3、7~14 均为首次从艾叶中分离, 化合物 1~12 具有明显的抗炎活性, 可在医药健康产品开发中加以利用。

## 1 仪器与材料

Bruker-600MHz 核磁共振测试仪(美国 Bruker 公司); Hewlett Pakard 110 型质谱仪(美国惠普公司); Agilent-1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); LC2050 制备液相色谱仪(武汉睿合色谱技术有限公司); METTLER TOLEDO 熔点仪(温度未校正, 瑞士 METTLER 公司); VICTOR Nivo 型酶标仪(珀金埃尔默企业管理有限公司); CCL-170B-8 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(新加坡 ESCO 公司); 全自动酶标计数仪(美国 Thermo 公司); DMEM 培养基(北京索莱宝科技有限公司); 脂多糖(LPS, 美国 Sigma 公司); 双抗(青霉素、链霉素, 美国 GIBCO 公司); NO 试剂盒(批号 PS0236-0100, 上海碧云天公司); 胰蛋白酶(以色列 Biological Industries 公司); RAW264.7 细胞[赛百慷(上海)技术股份有限公司]; 层析硅胶(300~400 目, 青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 凝胶(瑞典 Amersham 公司); 制备用色谱甲醇、乙腈(美国天地公司), 分离试剂

均由工业纯经重蒸处理使用。

新鲜艾叶于 2022 年 7 月采自贵州务川, 经贵州中医药大学孙庆文教授鉴定为菊科植物艾(*Artemisia argyi* Levl. et Vant.) 的叶, 标本存于贵州省天然产物研究中心(标本号: NPRC-22-11)。

## 2 提取分离

新鲜艾叶(19.75 kg) 经体积分数 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h。回收溶剂, 加水溶解分散后, 分别用石油醚、乙酸乙酯萃取, 回收溶剂得石油醚萃取物 360 g, 乙酸乙酯萃取物 270 g。石油醚萃取物经硅胶柱层析石油醚-乙酸乙酯(100:1 $\rightarrow$ 1:1) 梯度洗脱得 5 个流分(Fr. 1~Fr. 5)。Fr. 1 经 C<sub>18</sub> 反相硅胶柱层析甲醇-水(30:70 $\rightarrow$ 100:1) 梯度洗脱得 3 个亚流分(Fr. 1.1~Fr. 1.3)。Fr. 1.1 经 C<sub>18</sub> 反相硅胶柱层析甲醇-水(60:40~100:1) 梯度洗脱得化合物 15 (15.3 mg)。Fr. 1.2 经硅胶柱层析石油醚-乙酸乙酯(100:1 $\rightarrow$ 1:1) 梯度洗脱得 2 个亚流分(Fr. 1.2.1~Fr. 1.2.2), Fr. 1.2.1 经半制备液相 100% 乙腈洗脱得化合物 6 (6.3 mg,  $t_R$  = 15.3 min)。Fr. 1.2.2 经 LH-20 葡聚糖凝胶柱层析二氯甲烷-甲醇(1:1) 洗脱化合物 12 (8.6 mg)、化合物 14 (25.4 mg)。Fr. 3 经 C<sub>18</sub> 反相硅胶柱层析甲醇-水(30:70 $\rightarrow$ 100:1) 梯度洗脱得 3 个亚流分(Fr. 3.1~Fr. 3.3)。Fr. 3.1 经半制备液相体积分数 65% 甲醇-水洗脱得化合物 3 (20.2 mg,  $t_R$  = 26.3 min)、4 (23.6 mg,  $t_R$  = 38.4 min)。Fr. 3.2 经半制备液相体积分数 60% 甲醇-水洗脱得化合物 2 (16.8 mg,  $t_R$  = 42.7 min)。Fr. 4 经 C<sub>18</sub> 反相硅胶柱层析甲醇-水(30:70 $\rightarrow$ 100:1) 梯度洗脱得 3 个亚流分(Fr. 4.1~Fr. 4.3); Fr. 4.1 经半制备液相体积分数 60% 甲醇-水洗脱得化合物 10 (6.8 mg,  $t_R$  = 11.2 min)。

乙酸乙酯萃取物经硅胶柱层析石油醚-乙酸乙酯(100:1 $\rightarrow$ 1:1) 梯度洗脱得 5 个流分(Fr. 6~Fr. 10)。Fr. 6 经 C<sub>18</sub> 反相硅胶柱层析甲醇-水(30:70 $\rightarrow$ 100:1) 梯度洗脱得 3 个亚流分(Fr. 6.1~Fr. 6.3); Fr. 6.2 经半制备液相体积分数 45% 乙腈-水洗脱得化合物 7 (8.3 mg,  $t_R$  = 24.8 min)。Fr. 7 经 C<sub>18</sub> 反相硅胶柱层析甲醇-水(30:70 $\rightarrow$ 100:1) 梯度洗脱得 3 个亚流分(Fr. 7.1~Fr. 7.3); Fr. 7.2 经硅胶柱层析石油醚-乙酸乙酯(100:1) 洗脱得化合物 13 (4.2 mg)。Fr. 9 经 C<sub>18</sub> 反相柱层析甲醇-水(30:70 $\rightarrow$ 100:1) 梯度洗脱得 3 个流分(Fr. 9.1~Fr. 9.3)。Fr. 9.1 经半制备液相体积分数 45% 乙

睛-水洗脱得化合物 1 (3.2 mg,  $t_R = 40.7$  min)。Fr. 9.2 经硅胶柱层析石油醚-乙酸乙酯(20:1→1:1)梯度洗脱得 3 个亚流分 (Fr. 9.2.1 ~ Fr. 9.2.3), Fr. 9.2.3 再经硅胶柱层析石油醚-乙酸乙酯(20:1~1:1)梯度洗脱得 3 个亚流分 (Fr. 9.2.3.1 ~ Fr. 9.2.3.3), Fr. 9.2.3.1 经半制备液相 45% 乙腈-水洗脱得化合物 11 (4.5 mg,  $t_R = 16.6$  min); Fr. 9.2.3.2 经半制备液相体积分数 45% 乙腈-水洗脱得化合物 5 (7.8 mg,  $t_R = 14.8$  min); Fr. 9.2.3.3 经半制备液相体积分数 45% 乙腈-水洗脱得化合物 8 (4.0 mg,  $t_R = 9.2$  min)、9 (5.3 mg,  $t_R = 12.5$  min)。

### 3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, m. p. 210 ~ 212 °C。ESI-MS  $m/z$ : 571.3 [M + Na]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>36</sub>O<sub>8</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.39 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz, H-2'), 6.18 (1H, s, H-3), 6.11 (1H, d,  $J = 3.5$  Hz, H-13'a), 5.80 (1H, d,  $J = 5.6$  Hz, H-3'), 5.38 (1H, d,  $J = 3.5$  Hz, H-13'b), 5.05 (1H, m, H-8), 4.17 (1H, t,  $J = 9.8$  Hz, H-6'), 3.71 (1H, t,  $J = 10.1$  Hz, H-5), 3.48 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-6), 3.05 (1H, m, H-7'), 2.87 (1H, t,  $J = 10.2$  Hz, H-7), 2.40 (3H, s, H-15), 2.31 (3H, s, H-14), 2.03 (3H, s, OAc), 1.56 (3H, s, H-15'), 1.29 (3H, s, H-14')。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 134.5 (C-1), 195.0 (C-2), 136.3 (C-3), 171.0 (C-4), 50.4 (C-5), 79.3 (C-6), 56.8 (C-7), 63.3 (C-8), 43.7 (C-9), 143.6 (C-10), 60.1 (C-11), 176.4 (C-12), 36.9 (C-13), 20.4 (C-14), 20.1 (C-15), 66.3 (C-1'), 143.0 (C-2'), 132.0 (C-3'), 57.4 (C-4'), 66.6 (C-5'), 79.7 (C-6'), 43.5 (C-7'), 23.8 (C-8'), 35.0 (C-9'), 72.8 (C-10'), 140.8 (C-11'), 170.6 (C-12'), 119.6 (C-13'), 30.0 (C-14'), 14.6 (C-15'), 21.9, 170.3 (OAc)。以上数据与文献[9]报道基本一致,故鉴定为 artanomaloides。

化合物 2: 白色粉末, m. p. 203 ~ 205 °C。ESI-MS  $m/z$ : 267.3 [M + Na]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.19 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-13a), 6.18 (1H, d,  $J = 1.3$  Hz, H-3), 5.46 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-13b), 3.62 (1H, t,  $J = 10.1$  Hz, H-6), 3.50 (1H, m, H-5), 2.89 (1H, m, H-7), 2.44 (3H, d,  $J = 1.0$  Hz, H-14), 2.32 (3H, s, H-15)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 132.1 (C-1), 196.0 (C-2), 135.8 (C-3), 169.7 (C-4), 53.2 (C-5),

84.5 (C-6), 53.1 (C-7), 24.6 (C-8), 37.4 (C-9), 152.1 (C-10), 138.7 (C-11), 169.3 (C-12), 119.0 (C-13), 22.0 (C-14), 20.0 (C-15)。以上数据与文献[10]报道基本一致,故鉴定为 dehydroleucodin。

化合物 3: 黄色粉末, m. p. 155 ~ 157 °C。ESI-MS  $m/z$ : 313.0 [M + Na]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.29 (1H, d,  $J = 3.4$  Hz, H-13a), 5.54 (1H, d,  $J = 3.4$  Hz, H-13b), 5.18 (1H, dd,  $J = 10.7, 5.8$  Hz, H-6), 4.88 (2H, m, H-1), 4.57 (1H, dd,  $J = 9.9, 8.6$  Hz, H-3), 2.53 (1H, m, H-7), 1.46 (3H, s, H-14)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 125.8 (C-1), 32.3 (C-2), 81.1 (C-3), 139.6 (C-4), 124.3 (C-5), 79.1 (C-6), 50.1 (C-7), 28.3 (C-8), 41.1 (C-9), 138.9 (C-10), 138.9 (C-11), 170.2 (C-12), 120.4 (C-13), 16.5 (C-14), 12.7 (C-15), 21.2, 170.3 (OAc)。以上数据与文献[11]报道基本一致,故鉴定为 tamaulipin-B acetate。

化合物 4: 白色粉末, m. p. 167 ~ 168 °C。ESI-MS  $m/z$ : 707.2 [2M + Na]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.24 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-3'), 6.20 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3), 5.63 (1H, d,  $J = 2.9$  Hz, H-13a), 6.23 (1H, d,  $J = 2.9$  Hz, H-13b), 3.73 (1H, t,  $J = 10.1$  Hz, H-8), 3.33 (1H, tt,  $J = 10.3, 3.0$  Hz, H-7), 2.75 (1H, dd,  $J = 13.4, 10.8$  Hz, H-9a), 2.52 (1H, dd,  $J = 13.4, 2.2$  Hz, H-9b), 2.47 (3H, s, H-14), 2.33 (3H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-15), 1.92 (3H, m, H-5')。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 133.7 (C-1), 195.2 (C-2), 136.2 (C-3), 169.5 (C-4), 51.7 (C-5), 81.6 (C-6), 55.4 (C-7), 68.8 (C-8), 44.6 (C-9), 145.0 (C-10), 136.3 (C-11), 168.6 (C-12), 122.0 (C-13), 21.5 (C-14), 20.0 (C-15), 166.5 (C-1'), 126.9 (C-2'), 141.1 (C-3'), 16.1 (C-4'), 20.6 (C-5')。以上数据与文献[12]报道基本一致,故鉴定为莫沙坦内酯 (moxartanolide)。

化合物 5: 无色针状结晶 (甲醇), m. p. 153 ~ 155 °C。ESI-MS  $m/z$ : 267.1 [M + Na]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.04 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-1), 6.23 (1H, d,  $J = 9.9$  Hz, H-2), 6.20 (1H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-13a), 5.87 (1H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-13b), 4.60 (1H, m, H-8), 3.24 (1H, m, H-7), 1.98 (3H, s, H-15), 1.35 (3H, s, H-14)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 158.7 (C-1), 126.6 (C-2), 187.9 (C-3), 131.8 (C-4), 158.6 (C-5), 31.1 (C-6), 43.1 (C-7), 77.5 (C-8), 40.3 (C-9), 39.8 (C-10),

142.5 (C-11), 171.9 (C-12), 122.4 (C-13), 25.9 (C-14), 10.7 (C-15)。以上数据与文献[13]报道基本一致,故鉴定为 yomogin。

化合物 6: 白色无定型粉末, m. p. 171 ~ 173 °C。ESI-MS:  $m/z$ : 233.3  $[M - H]^-$ , 分子式为  $C_{15}H_{22}O_2$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.31 (1H, s, H-13a), 5.69 (1H, s, H-13b), 4.71 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-15), 4.41 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-15), 2.54 (1H, td,  $J = 12.1, 6.1$  Hz, H-7), 1.90 (1H, d,  $J = 11.9$  Hz, H-5), 0.74 (3H, s, H-14)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 41.9 (C-1), 23.6 (C-2), 36.9 (C-3), 150.8 (C-4), 50.0 (C-5), 30.1 (C-6), 39.5 (C-7), 27.4 (C-8), 41.2 (C-9), 36.1 (C-10), 145.2 (C-11), 171.6 (C-12), 124.9 (C-13), 16.5 (C-14), 105.6 (C-15)。以上数据与文献[14]报道基本一致,故鉴定为木香酸 (costic acid)。

化合物 7: 黄色油状物。EI-MS  $m/z$ : 248.0  $[M]^+$ , 分子式为  $C_{16}H_{24}O_2$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.17 (1H, s, H-13a), 5.59 (1H, s, H-13b), 4.73 (1H, m, H-15), 4.43 (1H, d,  $J = 1.4$  Hz, H-15'), 3.75 (3H, s, H-16), 2.54 (1H, m, H-7), 0.74 (3H, s, H-14)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 42.0 (C-1), 23.6 (C-2), 37.0 (C-3), 150.9 (C-4), 50.0 (C-5), 30.1 (C-6), 39.8 (C-7), 27.4 (C-8), 41.2 (C-9), 36.1 (C-10), 146.0 (C-11), 168.1 (C-12), 122.6 (C-13), 16.5 (C-14), 105.6 (C-15), 51.9 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[15]报道基本一致,故鉴定为 costic acid methyl ester。

化合物 8: 黄色油状物。ESI-MS  $m/z$ : 223.1  $[M - H]^-$ , 分子式为  $C_{13}H_{20}O_3$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.98 (1H, d,  $J = 16.1$  Hz, H-7), 6.44 (1H, d,  $J = 16.1$  Hz, H-8), 2.88 (1H, d,  $J = 13.7$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 2.45 (1H, m, H-5), 2.32 (3H, s, H-10), 1.86 (1H, dd,  $J = 13.7, 2.2$  Hz, H-2 $\beta$ ), 1.00 (3H, s, H-12), 0.96 (3H, s, H-11), 0.90 (3H, m, H-13)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 44.1 (C-1), 52.3 (C-2), 213.9 (C-3), 45.8 (C-4), 37.5 (C-5), 78.7 (C-6), 152.3 (C-7), 132.4 (C-8), 200.7 (C-9), 27.5 (C-10), 25.0 (C-11, 12), 16.3 (C-13)。以上数据与文献[16]报道基本一致,故鉴定为 PBI。

化合物 9: 黄色油状物。ESI-MS  $m/z$ : 231.1  $[M + Na]^+$ , 分子式为  $C_{13}H_{20}O_2$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.33 (1H, m, H-7), 6.14 (1H, d,  $J = 16.5$  Hz, H-8), 3.93 (1H, m, H-3), 2.41 (1H, dd,

$J = 17.5, 5.7$  Hz, H-4 $\alpha$ ), 2.30 (3H, s, H-10), 2.07 (1H, dd,  $J = 17.5, 9.7$  Hz, H-4 $\beta$ ), 1.79 (3H, s, H-12), 1.14 (3H, s, H-11), 1.11 (3H, s, H-12)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 37.8 (C-1), 49.3 (C-2), 64.9 (C-3), 43.5 (C-4), 133.2 (C-5), 136.9 (C-6), 144.5 (C-7), 134.3 (C-8), 201.2 (C-9), 27.2 (C-10), 30.6 (C-11), 28.8 (C-12), 21.7 (C-13)。以上数据与文献[17]报道基本一致,故鉴定为 (-)-3-hydroxy- $\beta$ -ionone。

化合物 10: 无色油状物。ESI-MS  $m/z$ : 415.5  $[2M + Na]^+$ , 分子式为  $C_{11}H_{16}O_3$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.69 (1H, s, H-6), 4.32 (1H, m, H-2), 2.45 (1H, dt,  $J = 14.1, 2.6$  Hz, H-3 $\beta$ ), 1.46 (3H, s, H-9), 1.27 (3H, s, H-10)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 47.4 (C-1), 67.0 (C-2), 45.8 (C-3), 86.9 (C-4), 182.6 (C-5), 113.1 (C-6), 172.1 (C-7), 36.1 (C-8), 26.6 (C-9), 30.8 (C-10), 27.1 (C-11)。以上数据与文献[18]报道基本一致,故鉴定为 pubinernoid A。

化合物 11: 无色油状物。ESI-MS  $m/z$ : 191.3  $[M + Na]^+$ , 分子式为  $C_{10}H_{16}O_2$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.72 (1H, s, H-2), 4.29 (1H, dt,  $J = 9.8, 2.1$  Hz, H-7), 2.36 (1H, dd,  $J = 16.1, 3.7$  Hz, H-5 $\beta$ ), 1.91 (1H, m, H-6), 0.95 (3H, d,  $J = 7.1$  Hz, H-9), 0.89 (3H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-10)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 202.1 (C-1), 135.3 (C-2), 151.8 (C-3), 27.2 (C-4), 37.2 (C-5), 51.1 (C-6), 69.4 (C-7), 20.9 (C-8), 15.4 (C-9), 16.8 (C-10)。以上数据与文献[19]报道基本一致,故鉴定为 subamone。

化合物 12: 白色针状结晶 (氯仿), m. p. 231 ~ 232 °C。ESI-MS  $m/z$ : 249.1  $[M - H]^-$ , 分子式为  $C_{16}H_{26}O_2$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.30 (2H, q,  $J = 1.5$  Hz, H-2, 6), 3.81 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 2.50 (2H, m, H-7), 2.07 (3H, s, H-15), 0.88 (3H, d,  $J = 7.0$  Hz, H-14)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 142.0 (C-1), 103.6 (C-2), 158.6 (C-3), 109.2 (C-4), 154.3 (C-5), 108.1 (C-6), 36.2 (C-7), 31.6 (C-8), 29.8 (C-9), 29.5 (C-10), 29.8 (C-11), 32.1 (C-12), 22.9 (C-13), 14.3 (C-14), 7.9 (C-15), 55.8 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[20]报道基本一致,故鉴定为 artefrigin。

化合物 13: 黄色油状物。ESI-MS:  $m/z$ : 295.3  $[M + H]^+$ , 分子式为  $C_{20}H_{38}O$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,

$CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.40 (1H, tq,  $J = 7.0, 1.4$  Hz, H-14), 4.15 (2H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-15), 1.66 (3H, d,  $J = 1.3$  Hz, H-20)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 36.8 (C-1), 39.5 (C-2), 24.9 (C-3), 37.5 (C-4), 28.1 (C-5), 32.9 (C-6), 24.6 (C-7), 37.4 (C-8), 32.8 (C-9), 37.6 (C-10), 25.3 (C-11), 40.0 (C-12), 140.4 (C-13), 123.2 (C-14), 59.6 (C-15), 22.9 (C-16), 22.8 (C-17), 19.9 (C-18), 19.9 (C-19), 16.3 (C-20)。以上数据与文献[21]报道基本一致,故鉴定为 cassipourol。

化合物 14: 白色针状结晶(氯仿), m. p. 333 ~ 335  $^{\circ}C$ 。ESI-MS  $m/z$ : 505.6  $[M + Na]^+$ , 分子式为  $C_{32}H_{50}O_3$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.97 (1H, s, H-26a), 5.76 (1H, s, H-26b), 4.75 (1H, s, H-27a), 4.64 (1H, s, H-27b), 4.47 (1H, dd,  $J = 10.9, 5.6$  Hz, H-3), 1.87 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, s, H-18), 0.86 (3H, s, H-28), 0.85 (3H, s, H-29), 0.84 (6H, s, H-19, 30)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 38.9 (C-1), 23.8 (C-2), 81.0 (C-3), 38.0 (C-4), 56.1 (C-5), 18.3 (C-6), 35.4 (C-7), 40.6 (C-8), 50.9 (C-9), 37.2 (C-10), 21.5 (C-11), 25.0 (C-12), 48.0 (C-13), 49.6 (C-14), 31.4 (C-15), 29.0 (C-16), 45.4 (C-17), 16.4 (C-18), 15.8 (C-19), 151.9 (C-20), 107.6 (C-21), 36.3 (C-22), 28.6 (C-23), 201.8 (C-24), 144.7 (C-25), 124.5 (C-26), 17.8 (C-27), 16.6 (C-28), 28.1 (C-29), 16.0 (C-30), 171.1 (C-31), 21.4 (C-32)。以上数据与文献[22]报道相符,故鉴定为  $3\beta$ -acetoxo-24-oxo-dammara-20,25-diene。

化合物 15: 白色针状晶体(氯仿), m. p. 301 ~ 303  $^{\circ}C$ 。ESI-MS  $m/z$ : 491.7  $[M + Na]^+$ , 分子式为  $C_{32}H_{52}O_2$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 5.13 (1H, m, H-24), 4.74 (1H, s, H-21a), 4.70 (1H, s, H-21b), 4.48 (1H, m, H-3 $\alpha$ ), 2.04 (3H, s, OAc), 1.69 (3H, s, H-26), 1.62 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-18), 0.87 (3H, s, H-28), 0.86 (3H, s, H-29), 0.85 (6H, s, H-19, 30)。 $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 38.9 (C-1), 23.9 (C-2), 81.1 (C-3), 38.1 (C-4), 56.1 (C-5), 18.3 (C-6), 35.5 (C-7), 40.6 (C-8), 51.0 (C-9), 37.3 (C-10), 21.5 (C-11), 25.1 (C-12), 48.0 (C-13), 49.6 (C-14), 31.5 (C-15), 27.2 (C-16), 45.4 (C-17), 16.0 (C-18), 16.4 (C-19), 152.9 (C-20), 107.6 (C-21), 34.3 (C-22), 29.1 (C-23), 124.6 (C-24), 131.6 (C-25), 25.9 (C-26), 17.9

(C-27), 28.1 (C-28), 15.8 (C-29), 16.7 (C-30), 21.5, 171.2 (OAc)。以上数据与文献[23]报道相符,故鉴定为 dammara-20,24-dien-3 $\beta$ -ol acetate。

#### 4 抗炎活性检测

利用 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞构建炎症模型, Griess 法测定细胞 NO 释放量<sup>[24-25]</sup>。将 RAW 264.7 巨噬细胞培养并配成细胞悬液,以每毫升  $2 \times 10^5$  个接种于 96 孔板中,每孔 80  $\mu L$ , 37  $^{\circ}C$ 、5%  $CO_2$  培养箱内培育 24 h。细胞按空白、模型、样品、阳性对照[地塞米松(DX)]进行分组,样品组浓度分别为 0.5、1.0、5.0、10.0、20.0  $\mu mol \cdot L^{-1}$ ,各浓度设复孔 3 个。除空白外,各组加 LPS 刺激 ( $5.0 \mu g \cdot mL^{-1}$ ),继续培养 24 h,取细胞上清液 50  $\mu L$ ,每孔依次加 Griess I、Griess II 试剂各 50  $\mu L$ ,混匀后于 540 nm 波长测定吸光度,计算 NO 浓度,结果见表 1。由表 1 可知,化合物 1 ~ 12 表现出明显的抗炎活性,  $IC_{50}$  值介于  $(1.27 \pm 0.02) \sim (17.55 \pm 0.13) \mu mol \cdot L^{-1}$ ,其作用与阳性对照 DX 相当,是鲜艾叶主要的非挥发性抗炎物质,这些非挥发性物质可在后续抗炎产品开发中与其挥发油搭配使用,亦可作为候选先导分子进一步加以甄选。

表 1 鲜艾叶中化合物 1 ~ 15 抗炎活性的半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 值。  $\mu mol \cdot L^{-1}$ ,  $n = 3$

Tab. 1  $IC_{50}$  values for the anti-inflammatory activity of compounds 1 - 15.  $\mu mol \cdot L^{-1}$ ,  $n = 3$

No.	$IC_{50}$	No.	$IC_{50}$
1	$3.01 \pm 0.13$	9	$17.55 \pm 0.13$
2	$1.27 \pm 0.02$	10	$4.21 \pm 0.65$
3	$1.65 \pm 0.02$	11	$7.85 \pm 0.43$
4	$1.88 \pm 0.03$	12	$1.28 \pm 0.22$
5	$1.64 \pm 0.35$	13	>50
6	$1.69 \pm 0.25$	14	>50
7	$1.35 \pm 0.52$	15	>50
8	$4.30 \pm 0.36$	Dexamethasone (DX)	$1.20 \pm 0.33$

#### 5 讨论

挥发油提取是鲜用艾叶的重要形式,以桉叶素、樟脑、龙脑、松油醇、石竹烯等为主的萜类成分是其物质基础,在医药大健康产业中得到广泛应用<sup>[6]</sup>。然而在挥发油应用中,非挥发性萜类往往被忽略,倍半萜类物质作为蒿属 (*Artemisia* L.) 植物的重要特征性成分,具有多种生物活性,具有较好的应用前景<sup>[26]</sup>。本研究针对鲜用艾叶中化学成分进行研究,

从中分离得到 15 个萜类成分,其中化合物 3、7~14 均为首次从艾叶中分离;通过 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞炎症模型对所有化合物进行活性筛选,初步揭示了鲜艾叶非挥发性抗炎活性物质是以倍半萜类为主的萜类成分。为更好发挥鲜艾叶的药用价值,在今后的抗炎产品应用中,可考虑合理提取非挥发性萜类成分搭配挥发油进行使用,既能更好地增强抗炎效果,又可减少资源浪费。

## REFERENCES

- [ 1 ] Flora of China Editorial Committee Chinese Academy of Science. *Flora of China*(中国植物志)[M]. Vol 76. Beijing: Science Press, 1991: 87.
- [ 2 ] *Ch. P* (2020) Vol I (中国药典 2020 年版. 一部)[S]. 2020: 91.
- [ 3 ] TAO H J. *Mingyi Bie Lu* (名医别录)[M]. Beijing: China Press of Chinese Medicine, 2013: 115.
- [ 4 ] LI S Z. *Compendium of Materia Medica* (本草纲目)[M]. Beijing: Huaxia Publishing House, 2008: 648.
- [ 5 ] JIA M R, LI K W. *Zhongguo Minzuyao Zhiyao*(中国民族药志要)[M]. Beijing: China Press of Chinese Medicine, 2005: 66.
- [ 6 ] LAN X Y, ZHANG Y, ZHU L B, *et al.* Research progress on chemical constituents from *Artemisia argyi* Folium and their pharmacological activities and quality control[J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2020, 45(17): 4017-4030.
- [ 7 ] REINHARDT J K, KLEMD A M, DANTON O, *et al.* Sesquiterpene lactones from *Artemisia argyi*: absolute configuration and immunosuppressant activity[J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(6): 1424-1433.
- [ 8 ] MENG Q Y. The fresh leaves of *Artemisia argyi* are effective in the treatment of neurodermatitis[J]. *Anthol Med*(医学文选), 1990, 1: 92.
- [ 9 ] ZHANG S J, MA Y L, WANG J L, *et al.* Chemical constituents of *Artemisia argyi*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2019, 50(8): 1906-1914.
- [ 10 ] WANG J L, MA Y L, WANG M J, *et al.* Sesquiterpenoids from *Artemisia integrifolia*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2018, 49(16): 3758-3762.
- [ 11 ] YOSHIOKA H, RENOLD W, FISCHER N H, *et al.* Sesquiterpene lactones from *Ambrosia confertiflora* (Compositae) [J]. *Phytochemistry*, 1970, 9(4): 823-832.
- [ 12 ] MASAYUKI Y, HIROMI S, HISASHI M, *et al.* Bioactive constituents of Chinese natural medicines. I. new sesquiterpene ketones with vasorelaxant effect from Chinese moxa, the processed leaves of *Artemisia argyi* Levl. et Vant. : moxartenone and moxartenolide[J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(9): 1656-1662.
- [ 13 ] XUE G M, ZHAO C G, XUE J F, *et al.* Chemical constituents from seeds of *Artemisia argyi*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2022, 53(9): 2605-2611.
- [ 14 ] LONDERO V S, COSTASILVA T A, ANTAR G M, *et al.* Antitrypanosomal lactones from *Nectandra barbellata* [J]. *J Nat Prod*, 2021, 84(5): 1489-1497.
- [ 15 ] ALFREDO O, RUBEÉN A T, EMMA M. A costic acid guaianyl ester and other constituents of *Podachaenium eminens*[J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(4): 1085-1090.
- [ 16 ] EI M Z, TORRES A, VARELA R M, *et al.* Isolation of bioactive compounds from sunflower leaves (*Helianthus annuus* L.) extracted with supercritical carbon dioxide [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(28): 6410-6421.
- [ 17 ] XU Z Q, CAI Y N, CHEN Y D, *et al.* Chemical constituents from the leaves of *Baphicacanthus cusia*[J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2021, 44(8): 1875-1879.
- [ 18 ] CHEN J K, CUL W X, BU O, *et al.* Study on terpenes with diverse skeletons from soft coral *Sinularia* sp. and their bioactivities[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2023, 54(5): 1370-1376.
- [ 19 ] CHEN H Q, FAN Y J, CAI C H, *et al.* Chemical constituents and their bioactivities from seeds of *Clausena lansium*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2019, 50(2): 324-329.
- [ 20 ] BORCHULUUN S, WANG Q H, XU Y H, *et al.* Structure elucidation and NMR assignments of a new sesquiterpene of volatile oil from *Artemisia frigida* Willd [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(14): 2367-2380.
- [ 21 ] XU C, WANG X T, GUO X H, *et al.* Study on the chemical components and their antibacterial activities from *Eriocaulon cinereum* R. Br. [J]. *Chin J Med Chem*(中国药物化学杂志), 2022, 32(9): 700-706.
- [ 22 ] THOMAS J S, MEIKE R H, GUNTER W. New dihydrobenzofurans and triterpenoids from roots of *Microglossa pyrifolia* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(3): 258-264.
- [ 23 ] ZHANG T, CHEN R Y. Study on chemical constituents in roots of *Inula racemose*[J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2011, 46(15): 1159-1162.
- [ 24 ] FAN Y Q, PENG C, XIONG L, *et al.* Terpenoids from *Fructus leonuri* and their anti-inflammatory activities[J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2023, 58(7): 571-575.
- [ 25 ] WANG L, LI L L, LI Q J, *et al.* Anti-inflammatory activity of Cili extracts and its therapeutic effect on ulcerative colitis model of mice[J]. *Food Mach*(食品与机械), 2023, 39(1): 164-169.
- [ 26 ] PAULA T L, ANTONIO J D, LUIZ C A, *et al.* Chemical composition and larvicidal activity of essential oils of three *Artemisia* species[J]. *J Appl Entomol*, 2023, 147(2): 116-125.

(收稿日期:2024-02-04)