

茵陈蒿的化学成分及其药理活性研究*

何静怡, 舒腾云, 苏丽花, 许敏[△]

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 研究传统中药材茵陈蒿的化学成分,以期从中发现具有药理活性的先导化合物。**方法** 利用大孔吸附树脂、硅胶、ODS 等柱色谱与半制备型高效液相色谱相结合对茵陈蒿中的化合物进行分离纯化,并结合化合物的理化性质与核磁共振波谱数据对分离得到的化合物进行结构鉴定。此外,采用 MTT 法和 ELISA 法对分离得到的化合物进行了抗肝癌以及抗 HBV 活性测试。**结果** 从采自山西的茵陈蒿的乙醇提取物中分离出 10 个单体化合物,活性测试结果表明上述化合物未显示抗肝癌以及抗 HBV 活性。**结论** 化合物 **1** 和 **2** 为新化合物,化合物 **1,3,4** 为烯炔类化合物,化合物 **2** 和 **10** 为脂肪酸类化合物,化合物 **5-9** 为萜类化合物。

关键词: 茵陈蒿;化学成分;分离鉴定;药理活性;细胞毒活性;抗 HBV 活性

中图分类号: R284.1; R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2023)01-0064-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2023.01.012

Study on Chemical Constituents and Pharmacological Activities of *Artemisia Capillaris*

HE Jingyi, SHU Tengyun, SU Lihua, XU Min

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the chemical constituents of *Artemisia capillaris*, traditional Chinese herb, with a view to discovering the lead compounds with pharmacological activities. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by the combination of macroporous adsorption resin, silica gel, ODS column chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography. The structures of the isolates were identified based on the physico-chemical properties and NMR spectroscopy data. In addition, the anti-hepatocellular carcinoma and anti-HBV activities of the isolated compounds were tested by MTT assay and ELISA. **Results** Ten compounds were isolated from the ethanol extract of *Artemisia capillaris*. Bioassay screening indicated that those isolates were not active. **Conclusion** Compounds **1** and **2** were new compounds, compounds **1, 3**, and **4** are polyacetylenes, compounds **2** and **10** are aliphatic acid, and compounds **5-9** are terpenoids.

KEY WORDS: *Artemisia capillaris*; chemical constituents; separation and identification; pharmacological activity; cytotoxic activity; anti HBV activity

茵陈是中国传统中药中用于治疗肝病的要药,来源于菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分。春季幼苗高 6~10 cm 时采收或秋季花蕾长成至花初开时采割,除去杂质和老茎,晒干。春季采收的习

称“绵茵陈”,秋季采割的称“花茵陈”^[1]。茵陈味苦、辛,微寒。归脾、胃、肝、胆经。关于茵陈药理活性的记载最早见于《神农本草经》中,谓其能除“热结黄疸,久服轻身益气耐老”。茵陈作为民间用于治疗肝病单验方中使用频次最多的中药,中医认为其气芳

收稿日期: 2022-11-07

* 基金项目: 云南省创新研究团队项目; Ronald J Q A M 院士工作站(2019IC003)

第一作者简介: 何静怡(1998-),女,在读硕士研究生,研究方向:天然药物化学。

[△]通信作者: 许敏, E-mail: xumin@kust.edu.cn

香,有清湿热、退黄疸的功效,临床上主要用来治疗黄疸尿少、湿疮瘙痒、黄疸型传染性肝炎和肝内胆汁淤积等症^[2-3]。

茵陈蒿作为抗肝病中药茵陈的主要植物来源之一,除传统的保肝利胆作用外,还具有抗炎抗病毒等多种功效,其药理作用多样,机制复杂^[4]。现代药理学研究表明,茵陈蒿的药理作用主要包括保肝^[5-6],利胆^[7],调脂降压^[8],降血糖,抗动脉粥样硬化^[9],抗肿瘤^[10-11],抗氧化等。为阐明其活性成分,自20世纪70年代以来,国内外学者对其化学成分进行了大量研究,从中分离鉴定了香豆素^[12]、黄酮^[13]、烯炔类^[14]、有机酸类化合物^[15-16]等120余个化合物,但是迄今为止依然无法解释茵陈蒿作为治疗肝病之要药的科学依据,且现有文献针对其萜类化合物的研究较少,缺乏对茵陈蒿中单体化合物抑制肝癌细胞活性的系统性研究。因此,为了进一步研究茵陈蒿中化学成分及其药理活性,探究中药材茵陈蒿作为治疗肝病之要药的科学依据,该文应用传统的植物化学研究方法,对茵陈蒿的95%乙醇提取物中,萜类化合物含量最多的流份进行了化学成分研究,经分离纯化共得到10个单体化合物(图1),分别鉴定为(*R,Z*)-deca-8-en-4,6-diyne-1,3-diol (**1**);methyl (*S*)-8-(5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)octanoate (**2**);gymnasterkoreayne A (**3**);(*S*)-deca-4,6,8-triyne-1,3-diol (**4**);dehydrovomifoliol (**5**);loliolide (**6**);(3*S*,5*R*,6*S*,7*E*)3,5,6-trihydroxy-7-megastigmen-9-one (**7**);(6*R*,9*R*)-3-oxo- α -ionol (**8**);trans-4-hydroxylinalool 3,6-oxide (**9**);methyl (*S*)-9-hydroxy-10-undecenoate (**10**),其中化合物**1**和**2**为新化合物。此外,采用MTT法测定分离得到的化合物对肝癌细胞的抑制作用,且基于前期文献调研工作,发现茵陈蒿中炔类化合物具有一定抗HBV活性^[14],本研究论文采用MTT法和ELISA法进一步针对茵陈蒿中分离得到的炔类化合物进行抗HBV活性测试。

1 实验仪器与材料

1.1 仪器 用Jasco P-1020数字旋光仪测量旋光度;用KBr微球在Thermo NICOLET iS10上测定了红外光谱;高分辨质谱用Agilent 6500系列Q-TOF

液质联用仪检测;核磁共振光谱用Bruker DRX-600核磁共振波谱仪(Bruker Bio-Spin group, Germany)进行测量,使用TMS作为内标;分析型液相色谱仪Waters 2695/2996(Waters公司,美国);制备型液相色谱仪Waters 1525/2998(Waters公司,美国);多功能酶标仪(Infinite M200Po,瑞士ECAN公司)。

正相柱层析采用的材料有200~300和500~800目的硅胶(青岛海洋化工厂);反向柱层析采用的材料有MCI-gel-CHP-20P(75~150 μ m,三菱化学工业有限公司);ODS-A(40~63 μ m,日本);薄层色谱采用硅胶板(青岛海洋化工有限公司),显色剂为10% H₂SO₄-EtOH溶液;半制备柱采用ACE C18-PFP和Waters sunfire-C18色谱柱(5 μ m,250 mm $\times$ 10 mm)。

1.2 材料 茵陈蒿于2020年10月采自中国山西省运城县,经贵州中医药大学吴之坤博士鉴定,确定为茵陈蒿(*Artemisia capillaris* Thunb.)药材,植物标本已存放在昆明理工大学生命科学与技术学院,标本编号为KMUST-BS-0116。

2 方法与结果

2.1 提取与分离 茵陈蒿全草100 kg,粉碎后用95%的乙醇室温提取3次,提取时间分别为3 h、2 h、1 h。将该提取物(20 kg)经减压浓缩后悬浮于水中,用乙酸乙酯萃取3次,经浓缩,得到乙酸乙酯萃取物5 kg。采用D101大孔树脂柱层析进行分离,分别用水、30%、50%、70%、90%、100%甲醇洗脱,得到7个流份Fr.A~Fr.G。为进一步促进茵陈蒿中萜类化合物的研究进展,本文结合薄层色谱TLC显色结果和LC-MS数据,选取萜类化合物较多的流份Fr.E作进一步分离纯化研究工作。

Fr.E(113 g)经硅胶柱色谱进行分离,用二氯甲烷和甲醇系统梯度洗脱(100:0~0:1),得到13个流份Fr.E1~Fr.E13。Fr.E5(1.34 g)经ODS柱层析进行分离,用甲醇-水系统梯度洗脱(30%~70%),得到11个流份Fr.E5-1~Fr.E5-11。Fr.E5-4(500 mg)经半制备HPLC(乙腈-水25%)分离得到化合物**5**(2.5 mg, *t_R*=17 min),**6**(5 mg, *t_R*=20 min),**7**(5 mg, *t_R*=25 min)。Fr.E5-5(76 mg)经半制备HPLC(乙腈-水30%)分离得

到化合物 **4** (2.8 mg, $t_R=10$ min), **9** (3 mg, $t_R=16$ min)。Fr.E6 (2.6 g) 经硅胶柱层析进行分离, 用石油醚和乙酸乙酯系统梯度洗脱 (30:1-0:1), 得到 23 个流份 Fr.E6-1~Fr.E6-23。Fr.E6-12 (100 mg) 经半制备 HPLC (乙腈-水 45%) 分离得到化合物 **2** (4 mg, $t_R=17$ min)。Fr.E6-17 (189 mg) 经半制备 HPLC (乙腈-水 18%) 分离得到化合物 **1** (3 mg, $t_R=27$ min), **3** (2 mg, $t_R=29$ min), **8** (7 mg, $t_R=32$ min)。Fr.E7 (2.8 g) 经硅胶柱层析进行分离, 用石油醚和乙酸乙酯系统梯度洗脱 (40:1-0:1), 得到 14 个流份 Fr.E7-1~Fr.E7-14。Fr.E7-7 (102 mg) 经半制备 HPLC (乙腈-水 38%) 分离得到化合物 **10** (16 mg, $t_R=14$ min)。

2.2 肝癌细胞活性测试 采用 MTT 法测定分离得到的 10 个化合物对肝癌细胞 HepG2 的抑制作用。用含 10% 胎牛血清的培养液 (DMEM) 配成单个细胞悬液, 以每孔 3 000~15 000 个细胞接种到 96 孔板, 每孔加入 100 μ L 细胞悬液, 在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 的培养箱中孵育 24 h, 使细胞贴壁。吸去旧培养基后, 待测化合物用 DMSO 溶解, 30 μ M 为初筛浓度加入板中, 继

续在培养箱中孵育 72 h。吸去培养基, 加入配好的 MTT 溶液 (5 mg/mL), 每孔加入 20 μ L, 培养箱中孵育 4 h, 然后每孔加入 200 μ L DMSO (二甲基亚砜) 避光震荡 12 min, 使用酶标仪在 490 nm 波长下测量吸光度值, 记录结果。紫杉醇作为阳性对照化合物。按公式计算细胞抑制率: 细胞抑制率 = [(空白组 - 实验组) / 空白组] $\times$ 100%。

2.3 HBV 活性测试 采用 MTT 法测定化合物 **1**, **3** 和 **4** 对 HepG2.2.15 细胞的毒性, 用 ELISA 法检测细胞上清液中的 HBeAg 和 HBsAg 抗原分泌。HepG2.2.15 细胞接种于 48 孔板, 3×10^4 细胞每孔, 加入生长培养基, 于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 培养箱中培养 24 h, 使细胞贴壁。吸除原培养基, 将稀释好的样品加入板中, 继续在培养箱中孵育 72 h。用 MTT 法检测药物细胞毒性, 用 ELISA 法测定样品对 HBeAg 和 HBsAg 抗原分泌抑制率, 以拉米夫定作为阳性对照。按公式计算细胞存活率和抗原抑制率: 细胞存活率 = (实验组 / 空白组) $\times$ 100%; 抗原抑制率 = [(空白组 - 实验组) / 空白组] $\times$ 100%。

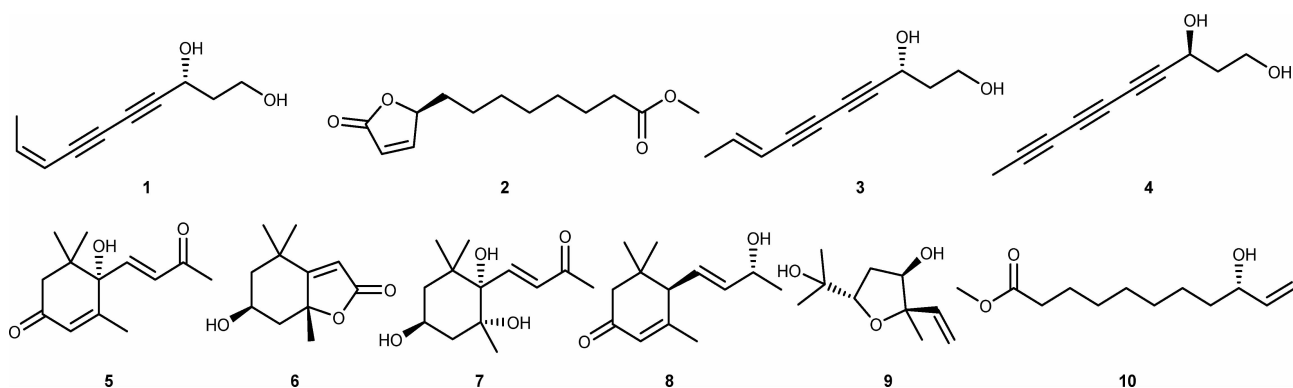


图 1 茵陈蒿中分离得到的化合物 (1-10)

2.4 结构鉴定 化合物 **1**: 淡黄色油状。 $[\alpha]_D^{25} -20.0$ (c 0.10, MeOH)。ESI-MS m/z : 187.0729 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值为 187.0735 $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 推测分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$, 不饱和度为 5。红外光谱 (KBr) 显示有羟基信号 (3403 cm^{-1}), 炔基信号 (2230 cm^{-1}) 和碳-碳双键信号 (1613 cm^{-1})。紫外光谱 (λ_{max} : 239, 252, 267, 283 nm) 与烯炔类化合物的紫外吸收吻合。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.21 (dq, $J=10.8, 6.9$ Hz, 1H, H-9), 5.55 (d, $J=10.8$ Hz, 1H, H-8), 4.60 (t, $J=6.3$

Hz, 1H, H-3), 3.71 (m, 2H, H-1), 1.89 (d, $J=6.9$ Hz, 3H, H-10), 1.89 (m, 2H, H-2)。 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据见表 1, 显示 10 个碳信号, 包括 4 个季碳, 3 个次甲基, 3 个亚甲基, 与化合物 *gymnasterkoreayne A* [17] 对比 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 数据基本一致, 除了 H-8 和 H-9 之间耦合常数由 15.8 Hz 变为 10.8 Hz, 故判断 8 位双键的构型为 *Z* 型。由于该化合物具有一个手性碳 (C-3), 为进一步判定其绝对构型, 我们对其比旋光度进行了测定, 结果为 $[\alpha]_D^{25} -20.0$ (c

0.10, MeOH), 与原文献 $[\alpha]_D^{25} -14.0$ (c 0.1, MeOH) 基本吻合, 综上所述, 化合物 **1** 鉴定为 (*R,Z*)-deca-8-en-4,6-diyne-1,3-diol。

化合物 **2**: 无色油状。 $[\alpha]_D^{24} 4.30$ (c 0.25, CHCl₃)。ESI-MS m/z : 263.1247 $[M+Na]^+$ (计算值为 263.1259 $[M+Na]^+$), 推测分子式为 C₁₃H₂₀O₄, 不饱和度为 4。红外光谱(KBr)显示有羰基信号(1756 cm⁻¹)和碳-碳双键信号(1601 cm⁻¹)。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ _H: 7.72(dd, $J=5.8, 1.5$ Hz, 1H, H-3), 6.13(d, $J=5.8$ Hz, 1H, H-2), 5.14(m, 1H, H-4), 3.65(s, 3H, H-13), 2.32(t, $J=7.4$ Hz, 2H, H-11), 1.86-1.29(m, 12H, H-5-H-10)。¹³C-NMR 数据见表 1, 显示 13 个碳信号, 包括 2 个季碳, 3 个次甲基, 7 个亚甲基, 1 个甲氧基, 与化合物 maritolid^[18] 对比 ¹H-NMR, ¹³C-NMR 数据基本一致, 主要区别在于化合物 **2** 少了一个连氧亚甲基信号, 出现了一个甲氧基信号。HMBC 谱中 OMe(δ _H 3.65)与 C-12(δ _C 175.7)相关, 进一步支持上述推测。为进一步判定 C-4 位的绝对构型, 我们对其比旋光度进行了测定, 结果为 $[\alpha]_D^{24} +4.30$ (c 0.3, CHCl₃), 与原文献 $[\alpha]_D^{24} -3.4$ (c 0.2, CHCl₃) 相反, 从而确定其绝对构型为 4*S*。综上所述, 化合物 **2** 鉴定为 methyl(*S*)-8-(5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl)octanoate。

化合物 **3**: 淡黄色油状。MS m/z : 187.1 $[M+Na]^+$, 分子式: C₁₀H₁₂O₂。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ : 6.30(dq, $J=16.3, 6.9$ Hz, 1H, H-9), 5.59(d, $J=16.3$ Hz, 1H, H-8), 4.57(t, $J=6.9$ Hz, 1H, H-3), 3.79(t, $J=5.6$ Hz, 2H, H-1), 1.94(m, 2H, H-2), 1.72(d, $J=6.9$ Hz, 3H, H-10)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献[17]报道基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 gymnasterko-reayne A。

化合物 **4**: 无色油状。MS m/z : 185.1 $[M+Na]^+$, 分子式: C₁₀H₁₀O₂。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ : 4.57(td, $J=6.1, 5.8$ Hz, 1H, H-3), 3.74(m, 2H, H-1), 1.97(s, 3H, H-10), 1.87(m, 2H, H-2)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献[14]报道基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为 (*S*)-deca-4,6,8-triyne-1,3-diol。

化合物 **5**: 无色油状。MS m/z : 245.1 $[M+Na]^+$, 分子式: C₁₃H₁₈O₃。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ : 7.00(d,

$J=15.8$ Hz, 1H, H-7), 6.44(d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-8), 5.94(s, 1H, H-4), 2.62(d, $J=17.1$ Hz, 1H, H-2a), 2.31(s, 3H, H-10), 2.28(d, $J=17.1$ Hz, 1H, H-2b), 1.89(s, 3H, H-13), 1.06(s, 3H, H-11), 1.02(s, 3H, H-12)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献[19]报道基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为 dehydrovomifoliol。

化合物 **6**: 淡黄色油状。MS m/z : 219.1 $[M+Na]^+$, 分子式: C₁₁H₁₆O₃。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ : 5.76(s, 1H, H-7), 4.22(m, 1H, H-3), 2.42(dd, $J=13.5, 2.6$ Hz, 1H, H-4a), 1.99(dd, $J=14.4, 2.6$ Hz, 1H, H-2a), 1.76(s, 3H, H-10), 1.74(dd, $J=13.5, 2.6$ Hz, 1H, H-4b), 1.53(dd, $J=14.4, 2.6$ Hz, 1H, H-2b), 1.47(s, 3H, H-9), 1.28(s, 3H, H-11)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献[20]报道基本一致, 故鉴定化合物 **6** 为 loliolide。

化合物 **7**: 无色油状。MS m/z : 265.1 $[M+Na]^+$, 分子式: C₁₃H₂₂O₄。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ : 7.18(d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-8), 6.18(d, $J=15.8$ Hz, 1H, H-7), 3.76(m, 1H, H-3), 2.31(dd, $J=14.3, 9.2$ Hz, 1H, H-4a), 2.29(s, 3H, H-10), 1.65(dd, $J=14.3, 9.2$ Hz, 1H, H-4b), 1.58(m, 1H, H-2a), 1.27(m, 1H, H-2b), 1.19(s, 3H, H-11), 1.18(s, 3H, H-13), 0.96(s, 3H, H-12)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献[21]报道基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为 (3*S*, 5*R*, 6*S*, 7*E*)3,5,6-trihydroxy-7-megastigmen-9-one。

化合物 **8**: 无色油状。MS m/z : 231.1 $[M+Na]^+$, 分子式: C₁₃H₂₀O₂。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ : 5.89(s, 1H, H-4), 5.69(dd, $J=15.3, 6.0$ Hz, 1H, H-8), 5.58(dd, $J=15.3, 9.3$ Hz, 1H, H-7), 4.28(m, 1H, H-9), 2.66(d, $J=9.3$ Hz, 1H, H-6), 2.42(d, $J=16.8$ Hz, 1H, H-2a), 2.05(d, $J=16.8$ Hz, 1H, H-2b), 1.96(s, 3H, H-13), 1.24(d, $J=6.5$ Hz, 3H, H-10), 1.03(s, 3H, H-11), 0.96(s, 3H, H-12)。¹³C-NMR 数据见表 1。以上数据与文献[22]报道基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为 (6*R*, 9*R*)-3-oxo- α -ionol。

化合物 **9**: 无色油状。MS m/z : 209.1 $[M+Na]^+$, 分子式: C₁₀H₁₈O₃。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ : 5.88(dd, $J=17.3, 10.8$ Hz, 1H, H-2), 5.25(dd, $J=17.3, 1.8$ Hz,

表 1 化合物 1–10 的 ¹³C–NMR 数据

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	59.0(t)	176.0(s)	59.1(t)	58.9(t)	42.6(s)	37.2(s)	35.4(s)	37.1(s)	112.9(t)	114.8(t)
2	41.4(t)	121.6(d)	41.0(t)	41.2(t)	50.5(t)	47.9(t)	46.2(t)	48.3(t)	142.8(d)	141.3(d)
3	60.3(d)	159.7(d)	60.3(d)	60.1(d)	200.8(s)	67.3(d)	63.0(d)	202.1(s)	87.5(s)	73.4(d)
4	85.0(s)	85.6(d)	83.6(s)	79.3(s)	127.4(d)	46.4(t)	40.0(t)	126.0(d)	76.8(d)	37.1(t)
5	69.4(s)	34.7(t)	69.7(s)	69.6(s)	164.3(s)	89.0(s)	67.4(s)	166.2(s)	34.5(t)	25.4(t)
6	75.9(s)	30.2(t)	72.4(s)	64.5(s)	80.0(s)	174.5(s)	69.4(s)	56.7(s)	83.5(d)	29.4(t)
7	78.4(s)	30.1(t)	78.1(s)	59.0(s)	149.9(d)	113.3(d)	143.7(d)	127.4(d)	72.0(s)	29.3(t)
8	109.7(d)	26.0(t)	110.5(d)	64.8(s)	131.1(d)	185.7(s)	132.4(d)	140.2(d)	27.6(q)	29.2(t)
9	144.1(d)	25.9(t)	146.2(d)	78.0(s)	200.4(s)	26.9(q)	198.3(s)	68.9(d)	26.5(q)	25.0(t)
10	16.5(q)	30.1(t)	18.8(q)	3.8(q)	28.1(q)	27.4(q)	23.7(q)	23.8(q)	21.3(q)	34.2(t)
11		34.0(t)			24.7(q)	30.7(q)	28.4(q)	27.4(q)		174.6(s)
12		175.7(s)			23.1(q)		26.4(q)	28.0(q)		51.6(q)
13		52.0(q)			19.2(q)		18.6(q)	23.7(q)		

1H, H-1a), 5.04 (dd, *J*=10.8, 1.8 Hz, 1H, H-1b), 3.82 (m, 1H, H-4), 3.83 (dd, *J*=9.4, 3.4 Hz, 1H, H-6), 2.22 (ddd, *J*=14.0, 9.4, 5.5 Hz, 1H, H-5a), 1.87 (ddd, *J*=13.5, 5.5, 3.4 Hz, 1H, H-5b), 1.27 (s, 3H, H-8), 1.24 (s, 3H, H-10), 1.14 (s, 3H, H-9)。¹³C–NMR 数据见表 1。以上数据与文献[23]报道基本一致,故鉴定化合物 9 为 trans-4-hydroxylinalool-3,6-oxide。

化合物 10: 黄色油状。MS *m/z*: 237.1 [M+Na]⁺, 分子式: C₁₂H₂₂O₃。¹H–NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 5.86 (ddd, *J*=16.9, 10.4, 6.3 Hz, 1H, H-2), 5.21 (dt, *J*=16.9, 1.4 Hz, 1H, H-1a), 5.10 (dt, *J*=10.4, 1.4 Hz, 1H, H-1b), 4.09 (m, 1H, H-3), 3.66 (s, 3H, H-12), 2.30 (t, *J*=7.5 Hz, 2H, H-10), 1.61 (m, 2H, H-9), 1.52 (m, 2H, H-4), 1.30 (m, 8H, H-5–H-8)。¹³C–NMR 数据见表 1。以上数据与文献[24]报道基本一致,故鉴定化合物 10 为 methyl(*S*)-9-hydroxy-10-undecenoate。

2.5 抗肝癌活性 本文对茵陈蒿中分离得到的化合物进行抗肝癌活性测试,以浓度为 3 μM 的紫杉醇作为阳性对照,细胞毒活性如表 2 所示,研究表明,在 30 μM 浓度下,上述化合物对肝癌细胞株 (HepG2) 未显示出抑制活性。

表 2 化合物 1–10 对 HepG2 的细胞毒性

化合物	抑制率 (%)	化合物	抑制率 (%)
DMSO	6.78±7.76	5 ^b	6.63±6.67
紫杉醇 ^a	69.46±3.66	6 ^b	6.25±10.93
1 ^b	20.71±8.14	7 ^b	–7.59±6.00
2 ^b	12.19±7.50	8 ^b	5.51±8.72
3 ^b	8.00±9.79	9 ^b	9.11±8.91
4 ^b	5.67±10.59	10 ^b	9.28±10.05

注: ^a 紫杉醇浓度为 3 μM; ^b 化合物浓度为 30 μM

2.6 抗 HBV 活性 本文对茵陈蒿中分离得到的烯炔类化合物(1,3,4)进行抗 HBV 活性测试,以浓度为 30 μM 的拉米夫定作为阳性对照,结果如表 3 所示,研究表明,在 30 μM 和 100 μM 浓度下,化合物 1,3,4 均未显示出抗 HBV 活性。

3 结论与讨论

肝病是我国高发病率的病种,常见的肝病有肝炎、肝纤维化、脂肪肝、肝癌等。基于前期文献调研显示,茵陈蒿是传统抗肝病中药茵陈的主要植物来源之一,临床上用于治疗各种肝胆疾病的复方方剂中均含有茵陈蒿,例如茵陈蒿汤可通过抑制 JAK2/

表 3 化合物 1,3,4 在 30 μM 和 100 μM 浓度下抗 HBV 活性

化合物	细胞存活率 (%)	HBsAg 抑制率 (%)	HBeAg 抑制率 (%)
DMSO	100.96 $\pm$ 4.75	6.88 $\pm$ 1.16	0.58 $\pm$ 8.09
3TC ^a	97.62 $\pm$ 4.73	35.23 $\pm$ 4.42	6.48 $\pm$ 1.86
1 ^b	96.12 $\pm$ 6.12	-1.39 $\pm$ 4.59	-9.25 $\pm$ 4.77
3 ^b	98.35 $\pm$ 6.56	2.44 $\pm$ 3.62	-0.23 $\pm$ 4.08
4 ^b	98.97 $\pm$ 4.20	7.87 $\pm$ 6.06	-8.05 $\pm$ 1.35
1 ^c	87.70 $\pm$ 1.43	-3.14 $\pm$ 4.95	-2.24 $\pm$ 3.24
3 ^c	88.56 $\pm$ 4.82	4.05 $\pm$ 8.28	-8.47 $\pm$ 1.88
4 ^c	89.90 $\pm$ 4.03	14.06 $\pm$ 3.29	-13.47 $\pm$ 8.36

注：^a 3TC 浓度为 30 μM ；^b 化合物浓度为 30 μM ；^c 化合物浓度为 100 μM

STAT3 信号通路促进肝癌细胞死亡，从而发挥抗肝癌作用^[25]，茵陈蒿汤加味临床上可用于治疗慢性乙型肝炎^[26]。但目前有关茵陈蒿中化学成分及其活性研究大多集中于有机酸类，黄酮类和香豆素类化合物^[27]，针对萜类化合物的研究较少，且缺乏茵陈蒿中单体化合物对肝癌细胞增殖的研究报道。本文从茵陈蒿的 95%乙醇提取物中，萜类化合物含量最多的流份里分离出 10 个化合物，并对其化学结构进行鉴定，包括 5 个萜类，3 个烯炔类，2 个脂肪酸类化合物，其中化合物 1 和 2 为新化合物。体外抗肝癌活性的实验结果表明，这些化合物对 HepG2 细胞无显著抑制作用。此外，根据文献报道，茵陈蒿中烯炔类化合物具有一定抗 HBV 活性^[14]，本研究论文针对分离得到的烯炔类化合物 1,3,4 进行抗 HBV 活性检测，结果表明这三个化合物均无抗 HBV 活性。现代药理学研究表明，茵陈蒿汤还具有抗肝硬化，肝纤维化等活性^[28]，后续将对分离得到的化合物进行抗肝病相关活性测试，并对活性化合物的作用机制进行解析，为其治疗肝病的药用价值提供科学依据和基础。本研究丰富了茵陈蒿的化学成分，并为其药理学研究奠定了物质基础。

参考文献：

[1] 王惠民. 茵陈的本草考证[J]. 中药材,1994,17(1):39-41.

[2] JANG E,KIM B J,LEE K T,et al. A survey of therapeutic effects of *Artemisia capillaris* in liver diseases [J]. Evid Based Complementary Alternat Med,2015(11):728-738.

[3] 彭皇青,顾江红. 思美泰联合中药茵陈利胆方治疗妊娠期肝内胆汁淤积症[J]. 云南中医学院学报,2013,36(6):71-73.

[4] 刘玉萍,邱小玉,刘烨,等. 茵陈的药理作用研究进展[J]. 中草药,2019,50(9):2235-2241.

[5] LIU X,ZHAO X X. Scoparone attenuates hepatic stellate cell activation through inhibiting TGF- β /Smad signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother,2017,93:57-61.

[6] 张姣姣,张婷,吴灿,等. 茵陈色原酮对小鼠急性乙醇性肝损伤的保护作用研究[J]. 抗感染药学,2011(4):257-261.

[7] 陈逸云,郑玥琪,时桢,等. 加味茵陈蒿汤对 UDCA 应答不佳的原发性胆汁性胆管炎患者肝纤维化的影响[J]. 上海中医药大学学报,2021,35(3):28-32.

[8] 陈钰琼,南笑溪,马玲,等. 茵陈蒿汤治疗高脂血症应用分析[J]. 山东中医杂志,2018,37(10):804-806.

[9] 陈素华,赵海燕. 茵陈汤对重度妊娠高血压综合征病人血浆神经肽 Y、胎盘组织 VEGF 和缺氧诱导因子-1 α 表达的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(5):734-736.

[10] 杨太成,赵树进,冼江,等. 茵陈提取物的纯化及体外抗肿瘤作用[J]. 广东医学杂志,2002(2):149-150.

[11] KIM J,JUNG K H,YAN H H,et al. *Artemisia Capillaris* leaves inhibit cell proliferation and induce apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. BMC Complement Altern Med,2018,18(1):147.

[12] WU T S,TSANG Z J,WU P L,et al. New constituents and antiplatelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris*[J]. Bioorg Med Chem,2001,9(1):77-83.

[13] NAMBA T,HATTORI M,TAKEHAN Y,et al. A flavone from *Artemisia capillaris*[J]. Phytochemistry,1983,22(4):1057-1058.

[14] GENG C A,YANG T H,HUANG X Y,et al. Anti-hepatitis B virus effects of the traditional chinese herb *Artemisia capillaris* and its active enynes[J]. J Ethnopharmacol,2018,224:283-289.

[15] KITAGAWA I,FUKUDA Y,YOSHIHARA M,et al. Capillartemisin A and B,two new choleretic principles from

- Artemisia capillaris* Herba[J]. Chem Pharm Bull(Tokyo), 1983,31(1):352-355.
- [16] 方文忠,葛尔宁,盛振华. 茵陈蒿汤中主要有效成份绿原酸的溶出规律研究[J]. 云南中医学院学报,2013,36(2):24-26.
- [17] JUNG H J,MIN B S,PARK J Y,et al. Gymnasterkore-aynes A-F,cytotoxic polyacetylenes from *Gymnaster kore-aiensis*[J]. J Nat Prod,2002,65(6):897-901.
- [18] KUO Y H,HUANG S L,CHANG C I. A phenolic and an aliphatic lactone from *Diospyros maritima*[J]. Phytochemistry,1998,49(8):2505-2507.
- [19] TAKASUGI M,ANETAI M,KATSUI N,et al. The occurrence of vomifoliol,dehydrovomifoliol and dihydrophase-ic acid in the roots of "kidney bean"(*Phaseolus Vulgaris* L.)[J]. Chemistry Letters,2006,2(3):245-248.
- [20] TAYLOR H F,BURDEN R S. Identification of plant growth inhibitors produced by photolysis of violaxanthin [J]. Phytochemistry,1970,9(10):2217-2223.
- [21] SUN Y,ZHAN Y C,SHA Y,et al. Norisoprenoids from *Ulva lactuca* [J]. J Asian Nat Prod Res,2007,9 (3-5):321-325.
- [22] PABST A,BARRON D,SEMON E,et al. Two diastere-omeric 3-oxo- α -ionol β -D-glucosides from raspberry fruit[J]. Phytochemistry,1992,31(5):1649-1652.
- [23] OSORIO C,DUQUE C. The role of (5E)-2,6-Dimethy-I-5,7-octadiene-2,3-diol as aroma precursor in *Badea* (*Passiflora quadrangularis* L.) fruit[J]. ACS Symp Ser,2008,988:158-166.
- [24] MIURA A,KUWAHARA S. A concise synthesis of pinel-lic acid using a cross-metathesis approach[J]. Tetrahe-dron,2009,65(17):3364-3368.
- [25] 谭章斌,丁文俊,徐由财,等. 茵陈蒿汤抑制 JAK2/STAT3 信号通路调控肝癌细胞增殖与凋亡[J]. 现代消化及介入诊疗,2021,26(3):295-299.
- [26] 刘云杰. 茵陈蒿汤加味治疗慢性乙型肝炎的临床疗效 [J]. 内蒙古中医药,2022,41(4):12-13.
- [27] 曹锦花. 茵陈的化学成分和药理作用研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2013,30(6):489-494.
- [28] 王晶,欧阳冰琛. 茵陈蒿汤防治肝脏疾病的药理作用及药动学研究进展[J]. 药物评价研究,2021,44(3):628-637.