

from *Elsholtzia rugulosa* Hemsl[J]. *Molecules*, 2009, 14(10): 4190-4196.

[23] Feng X Z, Xu S X, Mei D. Two novel flavonoids from *Ixeris sonchifolia*[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2000, 9(3): 134-136.

[24] Yan X T, Ding Y, Li W, et al. Two new phenolic compounds from *Artemisia iwayomogi*[J]. *Helv Chim Acta*, 2014, 97(2): 283-289.

[25] Sathiamoorthy B, Gupta P, Kumar M, et al. New antifungal flavonoid glycoside from *Vitex negundo*[J]. *Bioorg Med Chem*

Lett, 2007, 17(1): 239-242.

[26] 李博术, 邹录惠, 张寒翠, 等. 台东莢蒾化学成分及抗炎活性研究[J]. *中药材*, 2024, 47(9): 2233-2237.

[27] 王美芹, 朱敏汇, 杨 婷, 等. 稀花八角枫的化学成分及其体外抗炎活性研究[J]. *中药材*, 2024, 47(3): 615-623.

[28] 邱路雅, 杨 刚, 金 琼, 等. 石菖蒲根茎化学成分及抗炎活性研究[J]. *中草药*, 2022, 53(15): 4617-4624.

[29] 韦思宇, 韦玉璐, 卢凤来, 等. 罗汉果根化学成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. *中成药*, 2025, 47(4): 1181-1188.

川牛膝乙酸乙酯部位化学成分及其抗动脉粥样硬化活性研究

魏 敏¹, 叶家文¹, 褚天骄¹, 熊 利¹, 苏海国^{1*}, 熊 亮^{1,2*}
(1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川 成都 611137; 2. 成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都 611137)

摘要: **目的** 研究川牛膝乙酸乙酯部位化学成分及其抗动脉粥样硬化活性。**方法** 采用硅胶柱、半制备高效液相色谱进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用脂多糖 (LPS) 诱导 RAW264.7 细胞炎症模型和氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 诱导 RAW264.7 细胞脂质沉积模型评价抗动脉粥样硬化活性。**结果** 从中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为 5-甲氧基-6, 7-亚甲二氧-2'-羟基异黄酮 (**1**)、2'-羟基-5, 6, 7-三甲氧基异黄酮 (**2**)、irilin B (**3**)、cannabisin D (**4**)、cannabisin F (**5**)、反式-*N*-阿魏酰酪胺 (**6**)、顺式-*N*-阿魏酰酪胺 (**7**)、苝苣亭 (**8**)、scoparone (**9**)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸甲酯 (**10**)、uracil (**11**)、烟酰胺 (**12**)、28-hydroxymyrotheol A-19-*O*- β -*D*-glucopyranoside (**13**)。化合物 **1**、**6** 可抑制 NO 生成, **1** 还可抑制脂质沉积。**结论** 化合物 **4** 为首次从苋科植物中分离得到, **5**、**8**、**10**、**11** 为首次从川牛膝中分离得到。化合物 **1** 具有显著的抗动脉粥样硬化活性。

关键词: 川牛膝; 化学成分; 分离鉴定; 抗动脉粥样硬化活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2026)09-2973-08
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.09.017

Chemical constituents from the ethyl acetate fraction of *Cyathulae Radix* and their anti-atherosclerotic activity

WEI Min¹, YE Jia-wen¹, CHU Tian-jiao¹, XIONG Li¹, SU Hai-guo^{1*}, XIONG Liang^{1,2*}
(1. Ministry of Education Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicine, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents the ethyl acetate fraction of *Cyathulae Radix* and their anti-atherosclerotic activity. **METHODS** Separation and purification were performed using silica gel column chromatography combined with semi-preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The anti-atherosclerotic activity was evaluated using a lipopolysaccharide (LPS) -induced RAW264.7 cells inflammation model and an oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) -induced RAW264.7 cells lipid deposition model. **RESULTS** Thirteen compounds were isolated and

收稿日期: 2025-12-25
基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (82204226)
作者简介: 魏 敏 (2000—), 女, 硕士在读, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: 1842936509@qq.com
* 通信作者: 苏海国, 男, 副研究员, 从事中药化学生物学研究。E-mail: suhaiguo@cdutcm.edu.cn
熊 亮, 男, 研究员, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: xiling@cdutcm.edu.cn

identified as 5-methoxy-6, 7-methylenedioxy-2'-hydroxyisoflavone (**1**), 2'-hydroxy-5, 6, 7-trimethoxyisoflavone (**2**), irilin B (**3**), cannabisin D (**4**), cannabisin F (**5**), *trans*-*N*-feruloyltyramine (**6**), *cis*-*N*-feruloyltyramine (**7**), scopoletin (**8**), scoparone (**9**), methyl 3-hydroxy-4-methoxybenzoate (**10**), uracil (**11**), nicotinamide (**12**), and 28-hydroxymyrotheol A-19-*O*-β-*D*-glucopyranoside (**13**). Compounds **1** and **6** inhibited NO production, and **1** still inhibited lipid deposition. **CONCLUSION** Compound **4** is first isolated from Amaranthaceae family, and **5**, **8**, **10** and **11** are isolated from *Cyathulae Radix* for the first time. Compound **1** has significant anti-atherosclerotic activity.

KEY WORDS: *Cyathulae Radix*; chemical constituents; isolation and identification; anti-atherosclerotic activity

川牛膝为苋科多年生草本植物川牛膝 *Cyathula officinalis* Kuan 的干燥根，具有通利关节、逐瘀通经、利尿通淋功效，临床上常用于治疗跌扑损伤、风湿痹痛、经闭癥瘕、尿血血淋等症^[1]，其主要化学成分为皂苷类、甾酮类、多糖类等^[2]，具有抗氧化^[3]、抗炎^[4]、抗肿瘤^[5]、促进血管生成^[6]、调节免疫^[7]、舒张子宫平滑肌^[8]等多种药理作用。动脉粥样硬化作为脑梗死、冠心病、外周血管疾病等重大心脑血管疾病的共同病理基础，其发生发展与慢性炎症反应、脂质代谢紊乱密切相关^[9]，其主要特征为血管壁脂质沉积、炎症细胞浸润及斑块形成，严重威胁人类健康。中医将动脉粥样硬化归属于“胸痹”“脉积”“眩晕”“脉痹”等范畴，认为其发病机制与痰阻、血瘀、毒邪、气滞等病理因素密切相关，它们相互影响，彼此转化，共同推动其形成与发展^[10-11]，因此，防治本病时大多从活血化瘀入手，采用调节血脂代谢、抗炎及抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移等方式^[12]。基于此，本研究采用多种现代分离鉴定技术对川牛膝化合物进行分离鉴定，脂多糖(LPS)诱导 RAW264.7 细胞炎症模型和氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导 RAW264.7 细胞脂质沉积模型评价其抗动脉粥样硬化活性，以期阐明该药材相关物质基础，为其开发应用提供科学依据。

1 材料

timsTOF 高分辨质谱仪、Avance NEO 600 MHz 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);安捷伦 1220 半制备型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);移液枪(德国 Eppendorf 公司);RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);Varioskan 全波长多功能酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);激光双转盘高内涵分析系统[瑞孚迪生物医药(上海)有限公司];A2 型生物安全柜、CO₂ 培养箱(新加坡 ESCO 公司)。Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱[250 mm×10 mm, 5 μm, 月旭材料科技(上海)有限

公司];LUX® 5 μm cellulose-2 色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm, 美国 Phenomenex 公司);薄层层析硅胶板 GF254(安徽良臣硅源材料有限公司);200~300 目柱层析硅胶(青岛海洋化工有限公司);SQP 系列电子分析天平(德国 Sartorius 公司)。NO 检测试剂盒(批号 Z938250320)、脂滴绿色荧光检测试剂盒(BODIPY 493/503)(南京碧云天生物技术有限公司)。二甲基亚砜(DMSO, 批号 20B17B40, 武汉博士德生物工程有限公司);磷酸缓冲液(PBS)、DMEM 基础培养基、青霉素-链霉素溶液(批号 6124450、6125418、234137, 美国 Gibco 公司);胎牛血清(批号 12B292, 苏州依科赛生物科技股份有限公司)。脂多糖(LPS, 批号 3550210007, 北京索莱宝科技有限公司);氧化低密度脂蛋白(ox-LDL, 批号 2025-10-23, 广州奕源生物科技有限公司)。氘代试剂(美国 CIL 公司);甲醇为色谱纯(美国 Sigma 公司);其他试剂均为分析纯(成都市科隆化学制品有限公司)。

川牛膝于 2024 年 6 月购于四川省中药饮片有限责任公司，经成都中医药大学药学院高继海副教授鉴定为苋科杯苋属植物川牛膝 *Cyathula officinalis* Kuan 的干燥根，凭证标本(编号 CO-20240604)保存于成都中医药大学西南特色药材创新药物成分研究所。RAW264.7 小鼠单核巨噬细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

2 提取与分离

取干燥川牛膝 30 kg，加入 10 倍量乙醇加热回流提取 3 次，提取时间分别为 3、2、2 h，合并提取液，减压除去有机溶剂，得到 6.93 kg 总浸膏，加入水充分分散后用乙酸乙酯萃取，回收溶剂，得到乙酸乙酯部位浸膏(320.51 g)，经硅胶柱分离，以二氯甲烷-甲醇(50:1~0:50)梯度洗脱，根据 TLC 检识结果合并相似组分，最终得到 15 个(Fr. A~Fr. O)。

Fr. C 经硅胶柱分离，以石油醚-乙酸乙酯(2:0~

2 : 1) 梯度洗脱, 得到 11 个组分 (Fr. C1 ~ Fr. C11)。Fr. C4 经 C_{18} 反相硅胶柱分离, 以甲醇-水 (30 : 70 ~ 100 : 0) 梯度洗脱, 得到 11 个亚组分 (Fr. C4. 1 ~ Fr. C4. 11), Fr. C4. 1 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 1 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 4 个组分 (Fr. C4. 1. 1 ~ Fr. C4. 1. 4), Fr. C4. 1. 1 依次经反向 HPLC [流动相甲醇-水 (含 0.05% 三氟乙酸) 45 : 55]、制备薄层色谱、反向 HPLC [流动相甲醇-水 (70 : 30)] 纯化, 得到化合物 **9** (1.6 mg, t_R = 6.9 min); Fr. C4. 4 经反向 HPLC [流动相甲醇-水 (55 : 45)] 纯化, 得到化合物 **2** (4.7 mg, t_R = 24.9 min)、**3** (2.3 mg, t_R = 27.2 min)、**1** (2.7 mg, t_R = 28.8 min)。Fr. C5 依次经反向 HPLC [流动相甲醇-水 (35 : 65)]、手性 HPLC [流动相甲醇-水 (70 : 30)] 纯化, 得到化合物 **8** (0.9 mg, t_R = 12.5 min)。

Fr. K 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 0 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 11 个组分 (Fr. K1 ~ Fr. K11)。Fr. K9 经 C_{18} 反相硅胶柱分离, 以甲醇-水 (10 : 90 ~ 100 : 0) 梯度洗脱, 得到 22 个组分 (Fr. K9. 1 ~ Fr. K9. 22), Fr. K9. 14 经正相硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 0 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 8 个组分 (Fr. K9. 14. 1 ~ Fr. K9. 14. 8), Fr. K9. 14. 4 经反相 HPLC 纯化, 以甲醇-水 (70 : 30) 洗脱, 得到化合物 **4** (6.2 mg, t_R = 5.7 min)。

Fr. I 经硅胶柱层析, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 0 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 8 个组分 (Fr. I1 ~ Fr. I8)。Fr. I3 经 C_{18} 反相硅胶柱层析, 以甲醇-水 (10 : 90 ~ 100 : 0) 梯度洗脱, 得到 8 个组分 (Fr. I3. 1 ~ Fr. I3. 8), Fr. I3. 1 经硅胶柱层析, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 0 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 8 个组分 (Fr. I3. 1. 1 ~ Fr. I3. 1. 8), Fr. I3. 1. 6 依次经制备薄层色谱、反向 HPLC [流动相甲醇-水 (30 : 70)] 纯化, 得到化合物 **11** (4.2 mg, t_R = 7.2 min)、**12** (7.8 mg, t_R = 11.6 min); Fr. I3. 3 经反向 HPLC [流动相甲醇-水 (58 : 42)] 纯化, 得到化合物 **5** (6.9 mg, t_R = 22.6 min)。

Fr. L 经硅胶柱层析, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 0 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 9 个组分 (Fr. L1 ~ Fr. L9)。Fr. L4 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 0 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 11 个组分 (Fr. L4. 1 ~ Fr. L4. 11), Fr. L4. 7 经 C_{18} 反相硅胶柱分离, 以甲醇-水 (5 : 95 ~ 100 : 0) 梯度洗脱, 得到 Fr. L4. 7. 1 ~ Fr. L4. 7. 2。Fr. L4. 11 经 Sephadex

LH-20 凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 得到 7 个组分 (Fr. L4. 11. 1 ~ Fr. L4. 11. 7), Fr. L4. 11. 2 经 C_{18} 反相硅胶柱分离, 经甲醇-水 (5 : 95 ~ 100 : 0) 梯度洗脱, 得到 Fr. L4. 11. 2. 1 ~ Fr. L4. 11. 2. 5, Fr. L4. 11. 2. 4 依次经制备薄层色谱、反向 HPLC [流动相甲醇-水 (70 : 30), 体积流量 3.0 mL/min] 纯化, 得到化合物 **13** (6.0 mg, t_R = 14.0 min)。

Fr. M 经硅胶柱层析, 以二氯甲烷-甲醇 (80 : 1 ~ 0 : 80) 梯度洗脱, 得到 14 个组分 (Fr. M1 ~ Fr. M14)。Fr. M1 依次经硅胶柱、反相 HPLC 纯化, 以甲醇-水 (60 : 40) 洗脱, 得到化合物 **10** (4.0 mg, t_R = 14.2 min); Fr. M9 经 C_{18} 反相硅胶柱分离, 以甲醇-水 (10 : 90 ~ 100 : 0) 梯度洗脱, 得到 Fr. M9. 1 ~ Fr. M9. 9, Fr. M9. 2 经拆分 HPLC [流动相甲醇-水 (70 : 30)] 纯化, 得到化合物 **6** (16.7 mg, t_R = 10.4 min)。

Fr. E 经硅胶柱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (100 : 1 ~ 0 : 100) 梯度洗脱, 得到 13 个组分 (Fr. E1 ~ Fr. E13)。Fr. E5 依次经反向 HPLC [流动相甲醇-水 (44 : 56)]、拆分 HPLC [流动相甲醇-水 (72 : 28)] 纯化, 得到化合物 **7** (2.2 mg, t_R = 8.2 min)。

另外, 若无特殊说明, 半制备 HPLC 体积流量均为 2.5 mL/min, 检测波长均为 210 nm。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色胶状物, (+) -HR-ESI-MS m/z : 313.070 8 [M + H]⁺。¹H-NMR (chloroform-*d*, 600 MHz) δ : 4.12 (3H, s, 5-OCH₃), 6.11 (2H, s, -OCH₂O-), 6.71 (1H, s, H-8), 6.94 (1H, brt, J = 7.8 Hz, H-5'), 7.08 (1H, m, H-3'), 7.09 (1H, m, H-6'), 7.33 (1H, brt, J = 7.8 Hz, H-4'), 7.91 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (chloroform-*d*, 150 MHz) δ : 153.6 (C-2), 125.9 (C-3), 178.9 (C-4), 141.6 (C-5), 135.9 (C-6), 154.0 (C-7), 93.0 (C-8), 154.8 (C-9), 112.8 (C-10), 120.9 (C-1'), 156.8 (C-2'), 119.6 (C-3'), 130.2 (C-4'), 120.8 (C-5'), 130.6 (C-6'), 102.6 (-OCH₂O-), 61.4 (5-OCH₃)。以上波谱数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **1** 为 5-甲氧基-6, 7-亚甲二氧-2'-羟基异黄酮。

化合物 **2**: 油状物, (+) -HR-ESI-MS m/z : 329.102 1 [M + H]⁺。¹H-NMR (methanol-*d*₄, 600 MHz) δ : 3.86 (3H, s, 5-OCH₃), 3.91 (3H, s, 6-OCH₃), 3.99 (3H, s, 7-OCH₃), 6.90 (1H, m, H-5'), 6.90 (1H, m, H-3'), 6.99 (1H, s, H-8),

7.22 (1H, m, H-6'), 7.22 (1H, m, H-4'), 8.07 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (methanol-*d*₄, 150 MHz) δ: 155.1 (C-2), 124.9 (C-3), 177.8 (C-4), 141.9 (C-5), 153.7 (C-6), 160.0 (C-7), 97.7 (C-8), 156.4 (C-9), 113.9 (C-10), 120.8 (C-1'), 156.9 (C-2'), 117.3 (C-3'), 130.8 (C-4'), 120.7 (C-5'), 132.6 (C-6'), 61.8 (5-OCH₃), 62.6 (6-OCH₃), 57.0 (7-OCH₃)。以上波谱数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为 2'-羟基-5, 6, 7-三甲氧基异黄酮。

化合物 **3**: 淡黄色针状物, (+) -HR-ESI-MS *m/z*: 323.052 5 [M + Na]⁺。 ¹H-NMR (acetone-*d*₆, 600 MHz) δ: 3.88 (3H, s, 6-OCH₃), 6.56 (1H, s, H-8), 6.93 (1H, brt, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.97 (1H, brd, *J* = 7.8 Hz, H-3'), 7.27 (1H, brt, *J* = 7.8 Hz, H-4'), 7.31 (1H, brd, *J* = 7.8 Hz, H-6'), 8.22 (1H, s, H-2); ¹³C-NMR (acetone-*d*₆, 150 MHz) δ: 154.4 (C-2), 121.7 (C-3), 182.3 (C-4), 156.6 (C-5), 132.5 (C-6), 157.0 (C-7), 94.6 (C-8), 154.4 (C-9), 106.5 (C-10), 119.6 (C-1'), 157.0 (C-2'), 117.5 (C-3'), 130.7 (C-4'), 120.6 (C-5'), 132.5 (C-6'), 60.7 (6-OCH₃)。以上波谱数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 irilin B。

化合物 **4**: 白色粉末, (+) -HR-ESI-MS *m/z*: 625.253 3 [M + H]⁺。 ¹H-NMR (methanol-*d*₄, 600 MHz) δ: 2.47 (2H, dt, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-β), 2.70 (2H, t, *J* = 7.0 Hz, H-β'), 3.23 (2H, ddt, *J* = 14.0, 6.0, 7.0 Hz, H-α), 3.36 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-α'b), 3.40 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-α'a), 3.69 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-2), 3.75 (3H, s, OCH₃), 3.89 (3H, s, OCH₃), 4.35 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-1), 6.41 (1H, dd, *J* = 8.1, 2.0 Hz, H-6'), 6.53 (1H, s, H-8), 6.64 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 6.65 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5''), 6.65 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3''), 6.68 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3'''), 6.68 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3'''), 6.70 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.82 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6''), 6.82 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2''), 6.88 (1H, s, H-5), 6.97 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6'''), 6.97 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2'''), 7.21 (1H, s, H-4); ¹³C-NMR (methanol-*d*₄, 150 MHz) δ: 47.6 (C-1), 51.0 (C-2), 127.6 (C-3), 134.7 (C-4), 113.2 (C-5), 149.6 (C-6), 148.2 (C-7), 116.0

(C-8), 135.9 (C-1'), 112.5 (C-2'), 148.9 (C-3'), 146.3 (C-4'), 117.2 (C-5'), 121.4 (C-6'), 131.2 (C-1''), 130.7 (C-2''), 116.2 (C-3''), 156.8 (C-4''), 116.2 (C-5''), 130.7 (C-6''), 131.4 (C-1'''), 130.8 (C-2'''), 116.2 (C-3'''), 156.9 (C-4'''), 116.2 (C-5'''), 130.8 (C-6'''), 174.6 (C-2a), 170.4 (C-3a), 124.9 (C-4a), 132.6 (C-8a), 42.7 (C-α'), 42.4 (C-α), 35.7 (C-β'), 35.5 (C-β), 56.6 (OCH₃), 56.3 (OCH₃)。以上波谱数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为 cannabisin D。

化合物 **5**: 无定形粉末, (+) -HR-ESI-MS *m/z*: 647.235 1 [M + Na]⁺。 ¹H-NMR (acetone-*d*₆, 600 MHz) δ: 2.65 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-β), 2.74 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-β'), 3.45 (2H, dd, *J* = 13.0, 6.0 Hz, H-α), 3.49 (2H, dd, *J* = 13.0, 6.0 Hz, H-α'), 3.69 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.94 (3H, s, 3-OCH₃), 6.58 (1H, d, *J* = 15.7 Hz, H-8'), 6.68 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3''), 6.68 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5''), 6.74 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 6.76 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-6'''), 6.76 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3'''), 6.78 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.89 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-6''), 6.89 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2''), 7.03 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6), 7.05 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3'''), 7.05 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-6'''), 7.13 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 7.27 (1H, s, H-7), 7.27 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 7.35 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.45 (1H, d, *J* = 15.7 Hz, H-7'); ¹³C-NMR (acetone-*d*₆, 150 MHz) δ: 125.5 (C-1), 112.3 (C-2), 148.3 (C-3), 147.0 (C-4), 115.1 (C-5), 121.5 (C-6), 123.7 (C-7), 142.2 (C-8), 166.1 (C-9), 131.6 (C-1'), 113.5 (C-2'), 150.2 (C-3'), 148.9 (C-4'), 116.0 (C-5'), 125.6 (C-6'), 139.6 (C-7'), 121.9 (C-8'), 163.3 (C-9'), 130.7 (C-1''), 130.5 (C-2''), 116.1 (C-3''), 156.7 (C-4''), 116.1 (C-5''), 130.5 (C-6''), 131.1 (C-1'''), 130.5 (C-2'''), 116.1 (C-3'''), 5'''), 156.7 (C-4'''), 130.5 (C-6'''), 56.2 (3-OCH₃), 55.9 (3'-OCH₃), 42.0 (C-α'), 41.8 (C-α), 35.7 (C-β'), 35.5 (C-β)。以上化合物波谱数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为 cannabisin F。

化合物 **6**: 黄色油状物, (+) -HR-ESI-MS *m/z*:

314.138 5 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (methanol- d_4 , 600 MHz) δ : 2.75 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-7'), 3.46 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-8'), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 6.40 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-8), 6.71 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-5'), 6.72 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-3'), 6.79 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 7.01 (1H, dd, $J=8.1, 2.1$ Hz, H-6), 7.04 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6'), 7.05 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 7.11 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2), 7.43 (1H, d, $J=15.6$ Hz, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (methanol- d_4 , 150 MHz) δ : 128.3 (C-1), 111.5 (C-2), 150.0 (C-3), 149.3 (C-4), 116.5 (C-5), 123.2 (C-6), 142.0 (C-7), 118.7 (C-8), 169.2 (C-9), 131.3 (C-1'), 116.3 (C-3'), 156.9 (C-4'), 130.7 (C-2'), 56.4 (3-OCH₃), 116.3 (C-5'), 35.8 (C-7'), 130.7 (C-6'), 42.5 (C-8')。以上波谱数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **6** 为反式-*N*-阿魏酰酪胺。

化合物 **7**: 白色粉末, (+) -HR-ESI-MS m/z : 336.120 8 $[M+Na]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (methanol- d_4 , 600 MHz) δ : 2.69 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-7'), 3.40 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-8'), 5.81 (1H, d, $J=12.6$ Hz, H-8'), 3.83 (3H, s, 3'-OCH₃), 6.69 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3, 5), 6.74 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5'), 6.93 (1H, dd, $J=8.2, 1.9$ Hz, H-6'), 6.61 (1H, d, $J=12.6$ Hz, H-7'), 7.36 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2'), 7.00 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2, 6); $^{13}\text{C-NMR}$ (methanol- d_4 , 150 MHz) δ : 131.2 (C-1), 130.7 (C-2), 116.2 (C-3), 156.9 (C-4), 130.7 (C-6), 35.6 (C-7), 42.4 (C-8), 170.3 (C-9), 128.5 (C-1'), 113.9 (C-2'), 116.2 (C-5), 148.6 (C-3'), 124.8 (C-6'), 148.5 (C-4'), 115.8 (C-5'), 56.4 (3'-OCH₃), 138.4 (C-7'), 121.6 (C-8')。以上波谱数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为顺式-*N*-阿魏酰酪胺。

化合物 **8**: 白色粉末, (+) -HR-ESI-MS m/z : 215.031 7 $[M+Na]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (methanol- d_4 , 600 MHz) δ : 3.91 (3H, s, 7-OCH₃), 6.21 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 6.78 (1H, s, H-8), 7.12 (1H, s, H-5), 7.87 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (methanol- d_4 , 150 MHz) δ : 164.1 (C-2), 147.1 (C-6), 112.6 (C-3), 109.9 (C-5), 153.0 (C-7), 146.2 (C-4), 104.0 (C-8), 151.5 (C-9),

56.8 (7-OCH₃), 112.5 (C-10)。以上波谱数据与文献 [20] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为菝葜亭。

化合物 **9**: 白色无定形粉末, (+) -HR-ESI-MS m/z : 229.047 3 $[M+Na]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (methanol- d_4 , 600 MHz) δ : 3.88 (3H, s, 7-OCH₃), 3.93 (3H, s, 6-OCH₃), 6.27 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-3), 6.99 (1H, s, H-8), 7.14 (1H, s, H-5), 7.89 (1H, d, $J=9.6$ Hz, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (methanol- d_4 , 150 MHz) δ : 163.8 (C-2), 110.0 (C-3), 56.9 (6-OCH₃), 113.6 (C-5), 154.8 (C-7), 101.0 (C-8), 151.3 (C-9), 145.9 (C-4), 56.8 (7-OCH₃), 113.1 (C-10), 148.1 (C-6)。以上波谱数据与文献 [21] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为 scoparone。

化合物 **10**: 无定形粉末, (+) -HR-ESI-MS m/z : 183.065 1 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (methanol- d_4 , 600 MHz) δ : 3.86 (3H, s, 4-OCH₃), 3.89 (3H, s, 7-OCH₃), 6.84 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5), 7.54 (1H, m, H-6), 7.55 (1H, m, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (methanol- d_4 , 150 MHz) δ : 122.5 (C-1), 113.5 (C-2), 125.0 (C-6), 148.8 (C-3), 168.7 (C-7), 152.9 (C-4), 115.9 (C-5), 52.4 (7-OCH₃), 56.4 (4-OCH₃)。以上波谱数据与文献 [22] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为 3-羟基-4-甲氧基苯甲酸甲酯。

化合物 **11**: 白色无定形粉末, (+) -HR-ESI-MS m/z : 113.034 5 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (pyridine- d_5 , 600 MHz) δ : 7.53 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-6) 5.82 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-5), ; $^{13}\text{C-NMR}$ (pyridine- d_5 , 150 MHz) δ : 101.7 (C-3, 6), 153.7 (C-1, 2), 166.2 (C-7, 7'), 142.5 (C-4, 5)。以上波谱数据与文献 [23] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为 uracil。

化合物 **12**: 无色针晶, (+) -HR-ESI-MS m/z : 123.055 3 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 600 MHz) δ : 7.49 (1H, dd, $J=7.5, 4.5$ Hz, H-5), 8.20 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-4), 8.70 (1H, d, $J=4.5$ Hz, H-6), 9.03 (1H, s, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 150 MHz) δ : 148.7 (C-2), 123.4 (C-5), 135.2 (C-4), 151.9 (C-6), 129.7 (C-3), 166.4 (C-7)。以上波谱数据与文献 [24] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为烟酰胺。

化合物 **13**: 白色无定形粉末, (+) -HR-ESI-

MS m/z : 671. 375 7 $[M+Na]^+$ 。 ^1H -NMR (methanol- d_4 , 600 MHz) δ : 0.76 (3H, s, H_3 -24), 0.86 (3H, s, H_3 -23), 0.89 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H_3 -30), 1.02 (3H, s, H_3 -27), 0.97 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H_3 -29), 1.01 (3H, s, H_3 -26), 5.62 (1H, brs, H-11), 2.38 (1H, brs, H-8); ^{13}C -NMR (methanol- d_4 , 150 MHz) δ : 25.5 (C-1), 78.6 (C-3), 51.4 (C-5), 79.4 (C-7), 50.4 (C-8), 13.1 (C-24), 49.8 (C-17), 137.0 (C-9), 48.2 (C-10), 27.2 (C-6), 75.4 (C-2'), 38.4 (C-12), 38.6 (C-14), 18.1 (C-27), 119.7 (C-11), 31.3 (C-15), 33.0 (C-16), 28.0 (C-2), 56.0 (C-18), 38.9 (C-20), 58.6 (C-21), 31.5 (C-22), 76.4 (C-19), 26.8 (C-23), 178.8 (C-25), 39.1 (C-13), 16.9 (C-26), 63.3 (C-28), 23.4 (C-29), 23.7 (C-30), 102.5 (C-1'), 78.2 (C-3'), 72.0 (C-5'), 77.8 (C-4'), 41.6 (C-4), 63.1 (C-6')。以上波谱数据与文献 [25] 报道基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为 28-hydroxymyrotheol A-19- O - β - D -glucopyranoside。

4 抗动脉粥样硬化活性评价

4.1 细胞培养 RAW264.7 小鼠巨噬细胞置于恒温孵育箱内培养, 条件恒定为 37 ℃、5% CO_2 。细胞培养液选用 DMEM 基础培养基, 添加 10% 胎牛血清与 1% 青霉素-链霉素混合液。

4.2 CCK-8 法检测细胞活性 将处于对数生长期的细胞按 2×10^4 /孔密度接种 96 孔板中, 每孔加入 100 μ L 新鲜完全培养液, 常规孵育 24 h, 分为空白对照组和给药组 (化合物浓度为 40 μ mol/L), 继续孵育 24 h, 各孔滴加 10 μ L CCK-8 显色液, 避光下 37 ℃ 恒温孵育 1 h, 在 450 nm 波长处检测密度 (OD) 值, 按照公式细胞存活率 = (给药组平均 OD 值/空白对照组平均 OD 值) $\times$ 100% 计算细胞存活率。如图 1 所示, 在 40 μ mol/L 浓度下各化合物均无细胞毒性, 故选择其进行后续实验。

4.3 抗炎 RAW264.7 细胞以 2×10^4 /孔密度接种于 96 孔板中, 培养 24 h, 分为空白对照组、模型组 (1 μ g/mL LPS)、阳性对照组 (1 μ g/mL LPS+12.5 μ mol/L 姜黄素) 和药物处理组 (1 μ g/mL LPS+40 μ mol/L 化合物), 处理 24 h, 吸取各组上清液 50 μ L, 转移至新的 96 孔板中, 依次加入等体积 Griess 显色试剂 I、II 各 50 μ L, 室温静置反应后在 540 nm 波长处测定吸光度。如图 2 所示, 与模型组比较, 化合物 **1**、**6** 能抑制 LPS 诱导

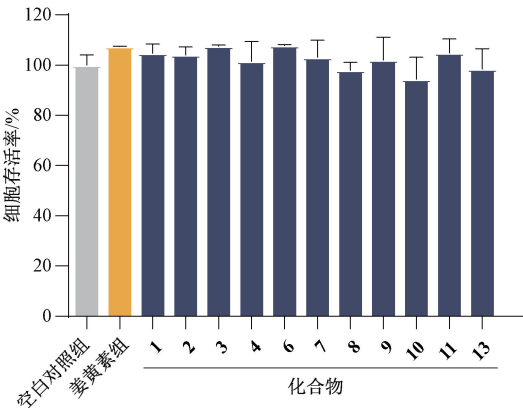
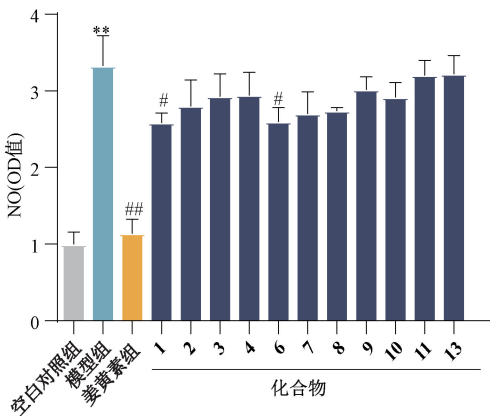


图 1 各化合物在 40 μ mol/L 浓度下对 RAW264.7 细胞活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 1 Effects of various compounds with the concentration of 40 μ mol/L on RAW264.7 cell viability ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

RAW264.7 细胞 NO 生成 ($P<0.05$)。

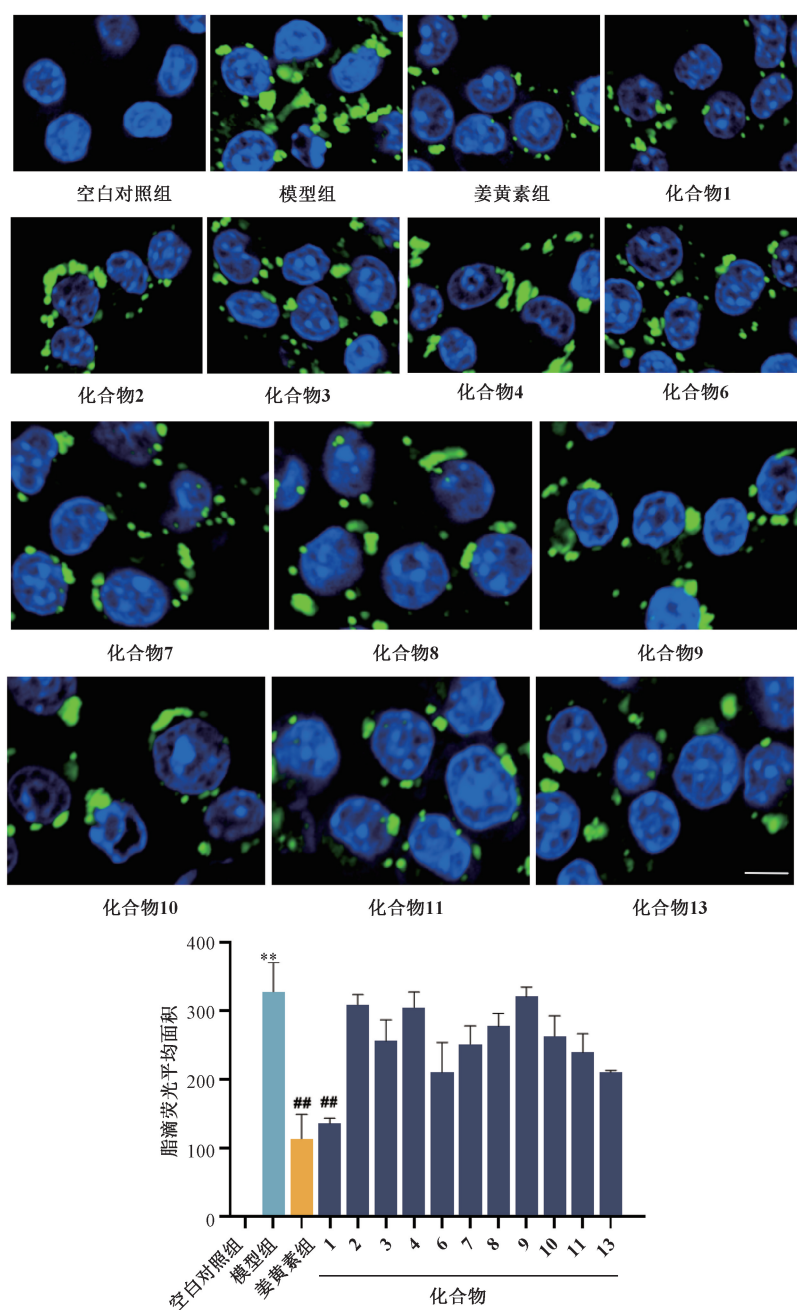


注: 与空白对照组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图 2 各化合物对 LPS 诱导 RAW264.7 细胞中 NO 生成的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 2 Effects of various compounds on NO production in LPS-induced RAW264.7 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

4.4 抗脂质沉积 将细胞按 2×10^4 /孔密度接种于 96 孔板中, 培养 24 h, 加入 75 μ g/mL ox-LDL 建立脂质沉积模型, 以 12.5 μ mol/L 姜黄素为阳性对照, 40 μ mol/L 化合物干预 24 h, 取出细胞, 用 PBS 洗涤 2 次, 加入 4% 多聚甲醛, 室温固定 15 min, 再用 PBS 洗涤 2 次, 每孔加入 100 μ L BODIPY 493/503 染色液, 室温孵育 15 min 后进行染色, PBS 洗涤 2 次, 采用高内涵分析系统对染色图像进行采集并分析。如图 3 所示, 与模型组比较, 化合物 **1** 能有效抑制 ox-LDL 诱导 RAW264.7 细胞中脂质沉积 ($P<0.01$)。



注：与空白对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 3 各化合物对 RAW264.7 细胞脂质沉积的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Effects of various compounds on lipid deposition in ox-LDL-induced RAW264.7 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

4.5 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

5 讨论与结论

动脉粥样硬化作为一种复杂的慢性炎症性疾病，其病理过程主要由炎症反应及脂质代谢紊乱共同驱动，因此，从天然产物中寻找兼具抗炎、降脂的活性成分已成为相关药物研发的有效策略。本研究对川牛膝乙酸乙酯部位化学成分展开研究，最终

分离得到 13 个化合物，其中化合物 4 为首次从苋科植物中发现，5、8、10、11 为首次从该药材中发现。同时，本研究构建 LPS 介导 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型和 ox-LDL 诱导 RAW264.7 巨噬细胞脂质沉积模型，评价各化合物抗动脉粥样硬化活性，并采用 CCK-8 法排除 40 $\mu\text{mol/L}$ 下对细胞的毒性作用。活性筛选结果显示，化合物 1、6 表现出中等抗炎活性，前者还具有较强的降低脂质沉积活性，后者也有着类似趋势。综上所述，本

研究不仅丰富了川牛膝化学成分库，还为其他活血化瘀中药在动脉粥样硬化治疗中的应用提供了科学依据。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2025 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2025: 41-42.

[2] Huang Y L, Wang S S, Liu L, *et al.* Review of traditional uses, botany, chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and toxicology of *Radix Cyathulae*[J]. *Chin Med*, 2019, 14(1): 17.

[3] Han X F, Shen S A, Liu T Q, *et al.* Characterization and antioxidant activities of the polysaccharides from *Radix Cyathulae officinalis* Kuan[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 544-552.

[4] Zhang L B, Yan Y, Lian W W, *et al.* Effects and molecular mechanisms of *Achyranthes bidentata* Blume and *Cyathula officinalis* K. C. Kuan in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1619776.

[5] Chen X M, Tian G Y. Structural elucidation and antitumor activity of a fructan from *Cyathula officinalis* Kuan[J]. *Carbohydr Res*, 2003, 338(11): 1235-1241.

[6] Zhou X L, Siu W S, Zhang C, *et al.* Whole extracts of *Radix Achyranthis Bidentatae* and *Radix Cyathulae* promote angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells *in vitro* and in zebrafish *in vivo*[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(3): 1032-1038.

[7] Feng H B, Du X G, Liu J, *et al.* Novel polysaccharide from *Radix Cyathulae officinalis* Kuan can improve immune response to ovalbumin in mice[J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 65: 121-128.

[8] 文 敏, 赵 芮, 孙美记, 等. 川牛膝化学成分及其舒张子宫平滑肌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37(2): 252-261.

[9] 周家谭, 卢健棋, 闫 涛, 等. 中药防治动脉粥样硬化相关信号通路的实验研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2025, 23(21): 3255-3262.

[10] 霍松妹, 赵永辰, 李元滨, 等. 动脉粥样硬化的中医病机探析[J]. 医学研究与教育, 2016, 33(6): 64-67.

[11] 黄明艳, 高嘉良, 刘 超, 等. 中医药辨治动脉粥样硬化规律探析[J]. 中国临床保健杂志, 2018, 21(6): 834-837.

[12] 孙 静, 刘 静, 王 鑫, 等. 活血化瘀类中药治疗动脉粥样硬化的作用机制研究[J]. 西部中医药, 2025, 38(3): 84-89.

[13] Jong T T, Hwang C C. Two rare isoflavones from *Celosia argentia*[J]. *Planta Med*, 1995, 61(6): 584-585.

[14] 陈 华, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 杨中铎, 等. 假木贼中化学成分的分离和结构鉴定[J]. 药学报, 2005, 40(3): 248-251.

[15] Hanawa F, Tahara S, Mizutani J. Isoflavonoids produced by *Iris pseudacorus* leaves treated with cupric chloride[J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(1): 157-163.

[16] Sakakibara I, Ikeya Y, Hayashi K, *et al.* Three phenyldihydronaphthalene lignanamides from fruits of *Cannabis sativa*[J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(9): 3219-3223.

[17] Sakakibara I, Ikeya Y, Hayashi K, *et al.* Three acyclic bis-phenylpropane lignanamides from fruits of *Cannabis sativa*[J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(4): 1003-1007.

[18] 黄伟明, 陈芳有, 卞玉婷, 等. 多穗金粟兰的化学成分及其抗炎活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(10): 1688-1697.

[19] 陈 华, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 李援朝. 短叶假木贼中化学成分的分离和结构鉴定[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(6): 958-961.

[20] Cho J Y, Jeong S J, Lee H, *et al.* Sesquiterpene lactones and scopoletins from *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. and their angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities[J]. *Food Sci Biotechnol*, 2016, 25(6): 1701-1708.

[21] 韩伟立, 刘 利, 张晓琦, 等. 鲁桑叶化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(8): 695-698.

[22] 赵红梅, 徐俊驹, 杨生超. 节鞭山姜酚性成分研究[J]. 云南农业大学学报 (自然科学), 2014, 29(3): 468-471.

[23] Lee E J, Lee J Y, Kim J S, *et al.* Phytochemical studies on *Lonicerae Flos* (1): Isolation of iridoid glycosides and other constituents[J]. *Nat Prod Sci*, 2010, 16(1): 32-38.

[24] 毕 丹, 宋月林, 张 梁, 等. 鹅胆的化学成分研究[J]. 中草药, 2009, 40(10): 1543-1545.

[25] Zhao R J, Peng C, Li L, *et al.* A new arborinane-type triterpenoid glycoside and three known megastigmanes from the roots of *Cyathula officinalis* KC Kuan[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2022, 104: 104489.