

# 参附注射液化学成分鉴定及其炔醇类化合物的抗炎活性研究<sup>△</sup>

郑琪<sup>1,2\*</sup>, 王晓雅<sup>1,2</sup>, 刘杰<sup>1,2</sup>, 彭成<sup>1</sup>, 熊亮<sup>1,2</sup>, 朱雅宁<sup>4</sup>, 周勤梅<sup>1,2,3#</sup>[1. 成都中医药大学药学院/省部共建西南特色中药资源国家重点实验室, 成都 611137; 2. 成都中医药大学西南特色药材创新药物成分研究所, 成都 611137; 3. 成都中医药大学中医药创新研究院, 成都 611137; 4. 华润三九(雅安)药业有限公司, 四川雅安 625000]

中图分类号 R917;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)16-1931-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.16.03



**摘要** 目的 研究参附注射液中的化学成分及其炔醇类化合物的抗炎活性。方法 经大孔吸附树脂、中压液相色谱、制备薄层色谱和反相半制备高效液相色谱对参附注射液进行分离纯化,根据理化性质和波谱数据鉴定化合物结构;通过RAW 264.7细胞炎症模型评价其中炔醇类化合物的抗炎活性,进一步采用Western blot法评价活性炔醇类化合物对环氧合酶-2(COX-2)蛋白表达的影响。结果 从参附注射液中分离鉴定出12个化合物,其中包括8个人参皂苷类化合物,即人参皂苷Rg<sub>1</sub>(1)、人参皂苷Re(2)、人参皂苷Rb<sub>1</sub>(3)、人参皂苷Rk<sub>1</sub>(4)、20(R)-人参皂苷Rh<sub>1</sub>(5)、20(S)-人参皂苷Rg<sub>3</sub>(6)、三七皂苷R<sub>1</sub>(7)、人参三醇(8);4个炔醇类化合物,即(3R,9R,10R)-人参炔三醇(9)、人参环氧炔醇(10)、heptadeca-1,8-dien-4,6-diyne-3,10-diol(11)、人参炔醇(12)。4种炔醇类化合物中,仅化合物10有抗炎活性。化合物10对正常的RAW 264.7细胞无毒;其给药浓度为12.5~50.0 μmol/L时,可显著逆转脂多糖诱导的细胞上清液中NO含量的升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );在给药浓度为50.0 μmol/L时,可显著逆转脂多糖诱导的细胞中COX-2蛋白表达量的升高( $P<0.05$ )。结论 化合物4、7、10~12首次在参附注射液中被鉴定并报道,其中人参环氧炔醇具有一定的抗炎作用。

**关键词** 参附注射液;炔醇类;抗炎活性;人参皂苷;分离鉴定

## Identification of chemical constituents in Shenfu injection and study on anti-inflammatory activities of its polyacetylene compounds

ZHENG Qi<sup>1,2</sup>, WANG Xiaoya<sup>1,2</sup>, LIU Jie<sup>1,2</sup>, PENG Cheng<sup>1</sup>, XIONG Liang<sup>1,2</sup>, ZHU Yanning<sup>4</sup>, ZHOU Qinmei<sup>1,2,3</sup>

[1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources/School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Institute of Innovative Medicine Ingredients of Southwest Specialty Medicinal Materials, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 3. Innovative Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 4. China Resources Sanjiu (Ya'an) Pharmaceutical Co., Ltd., Sichuan Ya'an 625000, China]

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To study the chemical constituents in Shenfu injection and the anti-inflammatory activities of its polyacetylene compounds. **METHODS** Shenfu injection was separated and purified by macroporous adsorption resin, medium pressure liquid chromatography, preparative thin layer chromatography and reversed-phase semi-preparative high-performance liquid chromatography, and the compound structure was identified according to the physicochemical properties and spectral data. RAW 264.7 cell inflammation model was used to evaluate the anti-inflammatory activities of polyacetylene compounds. The effects of active polyacetylene compounds on the expressions of cyclooxygenase-2 (COX-2) protein were evaluated by Western blot assay. **RESULTS** Twelves compounds were isolated and identified from Shenfu injection, including 8 ginsenoside compounds, i.e. ginsenoside Rg<sub>1</sub> (1), ginsenoside Re (2), ginsenoside Rb<sub>1</sub> (3), ginsenoside Rk<sub>1</sub> (4), 20(R)-ginsenoside Rh<sub>1</sub> (5), 20(S)-ginsenoside Rg<sub>3</sub> (6), notoginsenoside R<sub>1</sub> (7), panaxatriol (8); 4 polyacetylene compounds, i.e. (3R, 9R, 10R)-panaxytriol (9), panaxydol (10), heptadeca-1, 8-dien-4, 6-diyne-3, 10-diol (11) and panaxynol (12). Among 4 polyacetylene compounds, only compound 10 had anti-inflammatory activity. Compound 10 was not toxic to normal RAW264.7 cells; when the concentration of compound 10 ranged 12.5-50.0 μmol/L, it could significantly reverse the lipopolysaccharide-induced NO content increase in cell supernatant ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ); when the concentration of compound 10 was 50.0 μmol/L, it could significantly reverse the lipopolysaccharide-induced

<sup>△</sup> 基金项目 国家自然科学基金资助项目(No.81630101);四川省科技计划项目(No.2018JZ0081)

\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中药药效物质基础。  
E-mail:zq990726@outlook.com

# 通信作者 高级实验师,博士。研究方向:中药药效物质基础。  
E-mail:zhqmyx@sina.cn

protein expression increase of COX-2 in cells ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS** Compounds 4, 7, 10-12 are identified and reported in Shenfu injection for the first time, and panaxydol possesses a certain anti-inflammatory effect.

**KEYWORDS** Shenfu injection; polyacetylenes; anti-inflammatory activity; ginsenoside; isolation and identification

研究表明,心血管疾病与炎症密切相关,动脉粥样硬化、高血压、心力衰竭和心肌病等的发病过程都有炎症因子的参与<sup>[1]</sup>。参附注射液是临床上常用的中成药,常用于血管性疾病的治疗,如心力衰竭、心律失常、休克、缺血再灌注损伤、心肌梗死、脑梗死、血管性痴呆、缺血缺氧性脑病、血栓闭塞性脉管炎、下肢深静脉血栓等<sup>[2]</sup>。目前关于参附注射液的化学成分研究主要集中于对参附注射液中的化学成分进行分析及鉴定<sup>[3-5]</sup>,或对其主要成分人参皂苷进行含量测定<sup>[6-8]</sup>。为进一步明确参附注射液的药效物质基础,本课题组对参附注射液开展了系统研究,采用大孔吸附树脂、中压液相色谱、制备薄层色谱和反相半制备液相色谱等方法进行分离纯化,从参附注射液中分离鉴定出12个化合物,并对其中的焵醇类化合物进行了抗炎活性研究,现报道如下。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有 Bruker-600 型核磁共振(NMR)波谱仪、离子淌度质谱仪(德国 Bruker 公司), Synapt G2 HDMS 型高分辨质谱仪(美国 Waters 公司), LTQ-XL 型线性离子阱质谱仪、Series II Water Jacketed 型 CO<sub>2</sub> 孵箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), 1220 型半制备型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司), Power-Pac Basic 型基础电泳仪(美国 Bio-rad 公司), Tanon 5200 型显影仪(上海天能科技有限公司)等。

### 1.2 主要药品与试剂

参附注射液提取物(批号 18100361002)购自华润三九(雅安)药业有限公司。柱层析硅胶(批号 2202173, 规格 200~300 目)购自青岛海浪硅胶干燥剂厂;脂多糖(批号 0000114327)购自美国 Sigma 公司;一氧化氮试剂盒(批号 070821220411)购自南京建成生物工程研究所;DMEM 培养基(批号 8122126)购自美国 Gibco 公司;超灵敏化学发光检测试剂盒(批号 4AE242220FGE)购自北京四正柏生物科技有限公司;兔源 $\beta$ -actin 抗体(批号 GTX19639)购自美国 GeneTex 公司;兔源环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)抗体(批号 AF1924)购自上海碧云天生物技术有限公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(H+L)(批号 219761108)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

### 1.3 实验细胞

RAW264.7 细胞购自上海中乔新舟生物科技有限公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 提取与分离

以参附注射液提取物(260 g)为原料,经 D101 大孔吸附树脂上样吸附,依次用纯水和 10%、30%、50%、70%、90% 乙醇洗脱,得到不同乙醇洗脱部位(A~F)。D 部位(12.6 g)经中压液相色谱分离,用甲醇-水(甲醇 30%→80%)进行梯度洗脱,得到 5 个馏分(D1~D5),其

中 D2 有粉末析出;采用反相半制备液相色谱对该粉末进行分离,用乙腈-水(乙腈 30%→70%)进行梯度洗脱,制备得到化合物 1(8.5 mg)、化合物 2(12.2 mg)和化合物 3(11.0 mg)。E 部位(18.0 g)经中压液相色谱分离,用甲醇-水(甲醇 50%→100%)进行梯度洗脱,通过薄层色谱检视,合并相似流分,减压浓缩,最后得到 12 个流分(E1~E12)。取 E3(58.0 mg)经反相半制备液相色谱,以乙腈-水(20:80, V/V)为流动相分离得到化合物 7(1.2 mg)。取 E4(251.0 mg)经反相制备液相色谱,以甲醇-水(70:30, V/V)为流动相分离得到化合物 9(1.2 mg)。取 E7(428.0 mg)经反相制备液相色谱,以甲醇-水(87:13, V/V)为流动相分离得到 6 个流分(E7-1~E7-6)。其中 E7-2 经反相制备液相色谱,以乙腈-水(80:20, V/V)为流动相分离得到 5 个流分(E7-2-1~E7-2-5);E7-2-2 和 E7-2-5 进一步通过反相半制备液相色谱,分别以乙腈-水(70:30, V/V)和乙腈-水(68:32, V/V)为流动相分离得到化合物 11(1.4 mg)和化合物 12(2.2 mg)。E7-6 通过反相半制备液相色谱,以乙腈-水(72:28, V/V)为流动相制备得到化合物 10(2.1 mg)。E11(162.0 mg)经反相制备液相色谱,以甲醇-水(90:10, V/V)为流动相分离得到 3 个流分(E11-1~E11-3);E11-1 进一步通过反相半制备液相色谱,以乙腈-水(70:30, V/V)为流动相分离得到化合物 4(1.1 mg);E11-3 经反相半制备液相色谱,以乙腈-水(72:28, V/V)为流动相不断纯化得到化合物 5(2.5 mg)和化合物 6(2.3 mg)。E12(47.0 mg)经制备薄层色谱和反相半制备液相色谱,分别以二氯甲烷-甲醇(5:1, V/V)和甲醇-水(90:10, V/V)为流动相分离得到化合物 8(3.4 mg)。

### 2.2 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末。高分辨电喷雾离子化质谱(HR-ESI-MS)显示质荷比( $m/z$ )为 823.481 7[M+Na]<sup>+</sup>(计算值 823.482 0, C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>NaO<sub>14</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub>。<sup>1</sup>H-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 600 MHz)显示 8 个甲基质子信号: $\delta_{\text{H}}$  2.10(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.64(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.61(3H, s, H<sub>3</sub>-26 或 H<sub>3</sub>-27), 1.62(3H, s, H<sub>3</sub>-26 或 H<sub>3</sub>-27), 1.60(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 1.18(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 1.06(3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.83(3H, s, H<sub>3</sub>-30); 2 个糖端基质子信号: $\delta_{\text{H}}$  5.20(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1''), 5.06(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1'); 1 个烯氢信号: $\delta_{\text{H}}$  5.26(1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-24)。<sup>13</sup>C-NMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz)中 $\delta_{\text{C}}$ : 39.8(C-1), 28.3(C-2), 79.0(C-3), 40.7(C-4), 61.7(C-5), 80.1(C-6), 45.5(C-7), 41.5(C-8), 50.4(C-9), 40.0(C-10), 31.3(C-11), 70.5(C-12), 49.5(C-13), 51.7(C-14), 31.0(C-15), 27.0(C-16), 51.8(C-17), 18.1(C-18), 17.9(C-19), 83.6(C-20), 22.6(C-21), 36.5(C-22), 23.5(C-23), 126.3(C-24), 131.3(C-25), 26.1(C-26), 18.1(C-27), 32.1(C-28), 16.7(C-29), 17.5(C-30), 6-Glc-C-1'~6-Glc-C-6'(106.3, 75.8, 80.5, 72.2, 78.6, 63.4), 20-Glc-C-1''~20-Glc-C-6''(98.6, 75.5,

79.8, 72.0, 78.7, 63.3)。以上数据与文献[9]报道的人参皂苷Rg<sub>1</sub>一致。

化合物2: 白色粉末。HR-ESI-MS 显示  $m/z$  为 969.538 1[M+Na]<sup>+</sup> (计算值 969.539 9, C<sub>48</sub>H<sub>82</sub>NaO<sub>18</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>48</sub>H<sub>82</sub>O<sub>18</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 600 MHz) 显示 8 个甲基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  2.15(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.62(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.61(3H, s, H<sub>3</sub>-26), 1.61(3H, s, H<sub>3</sub>-27), 1.39(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 1.20(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 0.99(3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.98(3H, s, H<sub>3</sub>-30); 3 个糖端基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  6.54(1H, br s, H-1''), 5.30(1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1'), 5.20(1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1'''); 1 个 Rha 的甲基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.80(3H, d,  $J=6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-6''); 1 个烯氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.26(1H, t,  $J=6.6$  Hz, H-24); 1 个苷元部分特征质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.42(1H, d,  $J=10.8$  Hz, H-5 $\alpha$ )。 <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz) 中  $\delta_{\text{C}}$ : 39.4(C-1), 27.8(C-2), 78.7(C-3), 40.4(C-4), 61.2(C-5), 78.3(C-6), 46.3(C-7), 41.6(C-8), 49.9(C-9), 40.0(C-10), 31.3(C-11), 70.5(C-12), 49.5(C-13), 51.8(C-14), 31.1(C-15), 27.0(C-16), 52.0(C-17), 17.9(C-18), 18.0(C-19), 83.6(C-20), 22.6(C-21), 36.4(C-22), 23.6(C-23), 126.4(C-24), 131.2(C-25), 26.1(C-26), 18.1(C-27), 32.6(C-28), 17.7(C-29), 17.6(C-30), 6-Glc-C-1'~6-Glc-C-6' (102.2, 79.8, 78.7, 72.7, 78.9, 63.4), 2'-Rha-C-1''~2'-Rha-C-6'' (102.3, 72.8, 72.9, 74.6, 69.9, 19.1), 20-Glc-C-1'''~20-Glc-C-6''' (98.6, 75.5, 79.7, 72.0, 78.7, 63.3)。以上数据与文献[9]报道的人参皂苷Re一致。

化合物3: 白色粉末。HR-ESI-MS 显示  $m/z$  为 1 131.591 2[M+Na]<sup>+</sup> (计算值 1 131.592 7, C<sub>51</sub>H<sub>92</sub>NaO<sub>23</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>51</sub>H<sub>92</sub>O<sub>23</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 600 MHz) 显示 8 个甲基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.67(3H, s, H<sub>3</sub>-26 或 H<sub>3</sub>-27), 1.68(3H, s, H<sub>3</sub>-26 或 H<sub>3</sub>-27), 1.61(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.30(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.12(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 0.97(3H, s, H<sub>3</sub>-18 或 H<sub>3</sub>-30), 0.98(3H, s, H<sub>3</sub>-18 或 H<sub>3</sub>-30), 0.83(3H, s, H<sub>3</sub>-19); 4 个糖端基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.40(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1''), 5.16(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1'''), 5.13(1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1'''), 4.95(1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1'); 1 个烯氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.32(1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-24); 1 个苷元部分特征质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  0.67(1H, d,  $J=12.0$  Hz, H-5 $\alpha$ )。 <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz) 中  $\delta_{\text{C}}$ : 39.5(C-1), 27.1(C-2), 89.3(C-3), 40.4(C-4), 56.7(C-5), 18.8(C-6), 35.5(C-7), 40.0(C-8), 50.6(C-9), 37.2(C-10), 31.2(C-11), 70.6(C-12), 49.9(C-13), 51.9(C-14), 31.0(C-15), 27.0(C-16), 51.7(C-17), 16.6(C-18), 16.4(C-19), 83.8(C-20), 22.7(C-21), 36.5(C-22), 23.6(C-23), 126.3(C-24), 131.4(C-25), 26.2(C-26), 18.3(C-27), 28.5(C-28), 17.0(C-29), 17.8(C-30), 3-Glc-C-1'~3-Glc-C-6' (105.8, 83.9, 78.3, 72.0, 78.5, 63.0), 2'-Glc-C-1''~2'-Glc-C-6'' (106.5, 77.6, 78.7, 72.0, 78.7, 63.2), 20-Glc-C-1'''~

20-Glc-C-6''' (98.5, 75.2, 78.8, 71.9, 77.5, 70.5), 6'''-Glc-C-1''''~6''''-Glc-C-6'''' (105.6, 75.6, 78.8, 71.9, 79.6, 63.4)。以上数据与文献[9]报道的人参皂苷Rb<sub>1</sub>一致。

化合物4: 白色无定形粉末。HR-ESI-MS 显示  $m/z$  为 789.475 4[M+Na]<sup>+</sup> (计算值 789.476 5, C<sub>42</sub>H<sub>70</sub>NaO<sub>12</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>42</sub>H<sub>70</sub>O<sub>12</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) 显示 7 个甲基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.68(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.62(3H, s, H<sub>3</sub>-26), 1.33(3H, s, H<sub>3</sub>-27), 1.13(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 1.04(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 0.98(3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.84(3H, s, H<sub>3</sub>-30); 2 个糖端基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.41(1H, d,  $J=7.8$  Hz, 2'-Glc-H-1''), 4.96(1H, overlapped, 3-Glc-H-1'); 3 个烯氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.31(1H, t,  $J=7.2$  Hz, H-24), 5.17(1H, br s, H-21b), 4.93(1H, br s, H-21a); 1 个连氧次甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  3.96(1H, m, H-12); 2 个苷元部分特征质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  3.31(1H, dd,  $J=13.2, 5.4$  Hz, H-3), 0.70(1H, br d,  $J=11.4$  Hz, H-5)。 <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) 中  $\delta_{\text{C}}$ : 39.7(C-1), 26.2(C-2), 89.4(C-3), 40.2(C-4), 56.9(C-5), 18.9(C-6), 35.8(C-7), 40.6(C-8), 48.8(C-9), 37.5(C-10), 32.5(C-11), 72.1(C-12), 53.0(C-13), 51.7(C-14), 31.2(C-15), 27.5(C-16), 51.3(C-17), 17.1(C-18), 17.4(C-19), 156.0(C-20), 108.6(C-21), 34.3(C-22), 27.2(C-23), 125.8(C-24), 131.7(C-25), 26.2(C-26), 18.2(C-27), 28.6(C-28), 16.3(C-29), 17.0(C-30), 3-Glc-C-1'~3-Glc-C-6' (105.6, 84.0, 78.8, 72.1, 78.4, 63.2), 2'-Glc-C-1''~2'-Glc-C-6'' (106.6, 77.7, 78.8, 72.9, 78.6, 63.3)。以上数据与文献[4]报道的人参皂苷Rk<sub>1</sub>一致。

化合物5: 白色无定形粉末。HR-ESI-MS 显示  $m/z$  为 661.427 9[M+Na]<sup>+</sup> (计算值 661.429 2, C<sub>36</sub>H<sub>62</sub>NaO<sub>9</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>36</sub>H<sub>62</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 600 MHz) 显示 8 个甲基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  2.12(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.71(3H, s, H<sub>3</sub>-26), 1.66(3H, s, H<sub>3</sub>-27), 1.65(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 1.42(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.27(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 1.09(3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.89(3H, s, H<sub>3</sub>-30); 7 个糖端基质子信号: 5.09(1H, d,  $J=7.8$  Hz, 6-Glc-H-1'), 4.57(1H, br d,  $J=11.4$  Hz, 6-Glc-H-6'a), 4.41(1H, dd,  $J=11.4, 5.4$  Hz, 6-Glc-H-6'b), 4.27(1H, m, 6-Glc-H-3'), 4.14(1H, t,  $J=7.8$  Hz, 6-Glc-H-4'), 4.00(1H, m, 6-Glc-H-2'), 3.95(1H, m, 6-Glc-H-5'); 1 个烯氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.32(1H, m, H-24); 2 个苷元部分特征质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.48(1H, d,  $J=10.2$  Hz, H-5), 1.16(1H, t,  $J=10.2$  Hz, H-15b)。 <sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz) 中  $\delta_{\text{C}}$ : 39.9(C-1), 28.4(C-2), 79.0(C-3), 40.9(C-4), 61.9(C-5), 80.5(C-6), 45.7(C-7), 41.6(C-8), 50.7(C-9), 40.1(C-10), 32.7(C-11), 71.4(C-12), 49.4(C-13), 52.2(C-14), 31.8(C-15), 27.1(C-16), 51.1(C-17), 17.9(C-18), 18.2(C-19), 73.5(C-20), 23.2(C-21), 43.7(C-22), 23.1(C-23), 126.5(C-24), 131.2(C-25), 26.3(C-26), 18.2(C-27), 32.2(C-28), 16.9

(C-29), 17.5 (C-30), 6-Glc-C-1' ~ 6-Glc-C-6' (106.5, 76.0, 80.2, 72.3, 78.7, 63.6)。以上数据与文献[10]报道的20(R)-人参皂苷Rh<sub>1</sub>一致。

化合物6: 白色无定形粉末。HR-ESI-MS显示  $m/z$  为 807.485 7[M+Na]<sup>+</sup>(计算值 807.487 1, C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>NaO<sub>13</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>13</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 600 MHz)显示 8 个甲基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.67(3H, s, H<sub>3</sub>-26), 1.64(3H, s, H<sub>3</sub>-27), 1.44(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.33(3H, br s, H<sub>3</sub>-28), 1.13(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 0.98(3H, s, H<sub>3</sub>-30), 0.97(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 0.82(3H, s, H<sub>3</sub>-19); 2 个糖端基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.40(1H, d,  $J=7.2$  Hz, 2-Glc-H-1''), 4.58(1H, d,  $J=10.2$  Hz, 1-Glc-H-1'); 1 个烯氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.33(1H, m, H-24)。<sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz)中  $\delta_{\text{C}}$ : 39.6(C-1), 27.2(C-2), 89.4(C-3), 40.2(C-4), 56.8(C-5), 18.9(C-6), 35.6(C-7), 40.5(C-8), 50.8(C-9), 37.4(C-10), 32.5(C-11), 71.5(C-12), 49.1(C-13), 52.2(C-14), 31.8(C-15), 27.3(C-16), 55.3(C-17), 16.3(C-18), 16.8(C-19), 73.4(C-20), 27.6(C-21), 36.4(C-22), 23.5(C-23), 126.8(C-24), 131.2(C-25), 26.3(C-26), 17.5(C-27), 28.6(C-28), 17.1(C-29), 18.1(C-30), 3-Glc-C-1' ~ 3-Glc-C-6' (105.6, 84.0, 78.8, 72.1, 78.8, 63.3), 2'-Glc-C-1'' ~ 2'-Glc-C-6'' (106.6, 77.7, 78.6, 72.1, 78.4, 63.2)。以上数据与文献[11]报道的20(S)-人参皂苷Rg<sub>3</sub>一致。

化合物7: 白色无定形粉末。电喷雾离子化质谱(ESI-MS)显示  $m/z$  为 955.52[M+Na]<sup>+</sup>, 综合其 1D-NMR 数据分析, 推测其分子式为 C<sub>47</sub>H<sub>80</sub>O<sub>18</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 600 MHz)显示 8 个甲基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  2.09(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.61(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.61(6H, s, H<sub>3</sub>-26 和 H<sub>3</sub>-27), 1.49(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 1.15(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 0.98(3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.81(3H, s, H<sub>3</sub>-30); 3 个糖端基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.20(1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1''), 4.95(1H, d,  $J=7.2$  Hz, H-1'), 4.95(1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1''); 1 个烯氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.55(1H, br s, H-24)。<sup>13</sup>C-NMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N, 150 MHz)中  $\delta_{\text{C}}$ : 39.9(C-1), 28.3(C-2), 79.3(C-3), 40.1(C-4), 61.8(C-5), 80.0(C-6), 45.4(C-7), 41.6(C-8), 79.8(C-9), 40.7(C-10), 31.1(C-11), 70.6(C-12), 49.7(C-13), 51.9(C-14), 31.4(C-15), 27.1(C-16), 51.9(C-17), 18.0(C-18), 17.6(C-19), 83.7(C-20), 22.8(C-21), 36.6(C-22), 23.6(C-23), 126.5(C-24), 131.4(C-25), 26.2(C-26), 18.2(C-27), 32.2(C-28), 18.0(C-29), 17.2(C-30), 6-Glc-C-1' ~ 6-Glc-C-6' (104.0, 80.6, 79.3, 72.2, 80.4, 63.4), 2'-Xyl-C-1'' ~ 2'-Xyl-C-5'' (105.3, 76.3, 78.5, 71.8, 67.8), 20-Glc-C-1' ~ 20-Glc-C-6' (98.7, 75.6, 78.8, 72.2, 79.3, 63.4)。以上数据与文献[12]报道的三七皂苷R<sub>1</sub>一致。

化合物8: 白色无定形粉末。ESI-MS显示  $m/z$  为 477.33[M+H]<sup>+</sup>, 综合其 1D-NMR 数据分析, 推测其分子式为 C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)显示 8 个甲

基质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.31(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.26(3H, s, H<sub>3</sub>-27), 1.22(3H, s, H<sub>3</sub>-26), 1.18(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.06(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 0.98(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 0.93(3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.91(3H, s, H<sub>3</sub>-30); 3 个连氧次甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  4.11(1H, m, H-6), 3.53(1H, m, H-12), 3.18(1H, dd,  $J=11.4, 4.2$  Hz, H-3)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)中  $\delta_{\text{C}}$ : 38.8(C-1), 27.2(C-2), 78.7(C-3), 39.3(C-4), 61.3(C-5), 68.9(C-6), 47.2(C-7), 41.1(C-8), 49.5(C-9), 39.4(C-10), 31.0(C-11), 69.9(C-12), 48.9(C-13), 51.1(C-14), 31.2(C-15), 25.3(C-16), 54.8(C-17), 17.3(C-18), 17.3(C-19), 76.8(C-20), 19.5(C-21), 35.8(C-22), 16.4(C-23), 36.5(C-24), 73.3(C-25), 33.1(C-26), 27.2(C-27), 30.5(C-28), 15.6(C-29), 17.2(C-30)。以上数据与文献[13]报道的人参三醇一致。

化合物9: 无色油状物。HR-ESI-MS显示  $m/z$  为 301.177 2[M+Na]<sup>+</sup>(计算值 301.178 0, C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>NaO<sub>3</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)显示 3 个烯氢质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.94(1H, ddd,  $J=16.8, 10.2, 5.4$  Hz, H-2), 5.46(1H, dt,  $J=16.8, 1.2$  Hz, H-1a), 5.24(1H, dt,  $J=10.2, 1.2$  Hz, H-1b); 3 个连氧次甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  4.92(1H, br d,  $J=5.4$  Hz, H-3), 3.65(1H, m, H-9), 3.59(1H, m, H-10); 2 个亚甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.50(2H, m, H<sub>2</sub>-11), 2.58(2H, t,  $J=6.0$  Hz, H<sub>2</sub>-8); 1 组脂肪族链信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.29(10H, m, H-12~H-16)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)中  $\delta_{\text{C}}$ : 117.2(C-1), 136.3(C-2), 63.5(C-3), 75.0(C-4), 71.0(C-5), 66.6(C-6), 78.3(C-7), 25.7(C-8), 72.3(C-9), 73.2(C-10), 33.7(C-11), 25.1(C-12), 29.7(C-13), 29.4(C-14), 31.9(C-15), 22.8(C-16), 14.2(C-17)。以上数据与文献[14]报道的(3R, 9R, 10R)-人参炔三醇一致。

化合物10: 无色油状物, HR-ESI-MS显示  $m/z$  为 283.164 1[M+Na]<sup>+</sup>(计算值 283.167 4, C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>NaO<sub>2</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)显示 3 个烯氢质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.95(1H, ddd,  $J=16.8, 10.2, 5.4$  Hz, H-2), 5.47(1H, br d,  $J=16.8$  Hz, H-1a), 5.26(1H, br d,  $J=10.2$  Hz, H-1b); 3 个连氧次甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  4.93(1H, d,  $J=5.4$  Hz, H-3), 3.14(1H, ddd,  $J=9.6, 5.4, 4.2$  Hz, H-9), 2.96(1H, m, H-10); 2 个连炔键的亚甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  2.70(1H, dd,  $J=18.0, 6.0$  Hz, H-8a), 2.39(1H, dd,  $J=18.0, 7.2$  Hz, H-8b); 1 个末端甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  0.88(3H, t,  $J=7.2$  Hz, H<sub>3</sub>-17); 2 组脂肪族链信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.50(4H, m, H-11~H-12), 1.32(8H, m, H-13~H-16)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)中  $\delta_{\text{C}}$ : 117.3(C-1), 136.1(C-2), 63.6(C-3), 75.0(C-4), 70.9(C-5), 66.4(C-6), 76.8(C-7), 19.6(C-8), 54.4(C-9), 57.1(C-10), 27.6(C-11), 26.6(C-12), 29.5(C-13), 29.3(C-14), 31.8(C-15), 22.7(C-16), 14.2(C-17)。以上数据与文献[15]报道的人参环氧炔醇一致。

化合物 11: 白色无定形粉末, HR-ESI-MS 显示  $m/z$  为 283.165 1[M+Na]<sup>+</sup> (计算值 283.167 4, C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>NaO<sub>2</sub>), 推测化合物的分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) 显示 5 个烯氢质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  6.34 (1H, dd,  $J=15.6$ 、5.4 Hz, H-9), 5.96 (1H, ddd,  $J=17.4$ 、10.2、5.4 Hz, H-2), 5.77 (1H, d,  $J=15.6$  Hz, H-8), 5.48 (1H, br d,  $J=17.0$  Hz, H-1b), 5.27 (1H, br d,  $J=10.2$  Hz, H-1a); 2 个连氧次甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  4.98 (1H, d,  $J=5.4$  Hz, H-3), 4.20 (1H, m, H-10); 1 个末端甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  0.88 (3H, t,  $J=7.2$  Hz, H<sub>3</sub>-17); 1 组脂肪族链信号:  $\delta_{\text{H}}$  1.28~1.64 (12H, m, H-11~H-16)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 中  $\delta_{\text{C}}$ : 117.4 (C-1), 136.0 (C-2), 63.8 (C-3), 80.5 (C-4), 73.6 (C-5), 71.0 (C-6), 77.6 (C-7), 108.1 (C-8), 150.1 (C-9), 72.1 (C-10), 37.0 (C-11), 25.3 (C-12), 29.3 (C-13), 29.5 (C-14), 22.7 (C-15), 31.9 (C-16), 14.2 (C-17)。以上数据与文献[16]报道的 heptadeca-1, 8-dien-4, 6-diyne-3, 10-diol 一致。

化合物 12: 无色油状物。ESI-MS 显示  $m/z$  为 245.24[M+H]<sup>+</sup>, 综合其 1D-NMR 数据分析, 推测其分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) 显示 5 个烯氢质子信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.94 (1H, ddd,  $J=17.4$ 、10.2、5.4 Hz, H-2), 5.51 (1H, m, H-10), 5.47 (1H, d,  $J=17.4$  Hz, H-1a), 5.37 (1H, m, H-9), 5.24 (1H, d,  $J=10.2$  Hz, H-1b); 1 个连氧次甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  4.91 (1H, d,  $J=4.8$  Hz, H-3); 1 个与双键相连的亚甲基信号: 3.03 (2H, d,  $J=7.2$  Hz, H<sub>2</sub>-8); 1 个末端甲基信号:  $\delta_{\text{H}}$  0.88 (3H, t,  $J=6.6$  Hz, H<sub>3</sub>-17)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) 中  $\delta_{\text{C}}$ : 117.1 (C-1), 136.2 (C-2), 63.7 (C-3), 74.3 (C-4), 71.4 (C-5), 64.1 (C-6), 80.4 (C-7), 17.8 (C-8), 122.0 (C-9), 133.2 (C-10), 27.3 (C-11), 29.3 (C-12), 29.3 (C-13), 29.3 (C-14), 31.9 (C-15), 22.8 (C-16), 14.2 (C-17)。以上数据与文献[15]报道的人参炔醇一致。

## 2.3 炔醇类成分的抗炎活性研究

2.3.1 统计分析方法 实验结果以 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- $t$  检验。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

2.3.2 细胞活力测定 用 CCK-8 法进行检测。为防止药物因具有细胞毒作用导致细胞死亡而产生假阳性结果, 对药物是否具有杀死 RAW264.7 细胞的作用进行考察。将 RAW264.7 细胞置于 96 孔板中, 调整细胞密度为  $5 \times 10^4$  个/孔, 设置空白组和给药组。在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下(后同)培养 24 h, 弃上清液, 给药组加入用无血清 DMEM 培养基配制的含炔醇类化合物(化合物 9~12)的药液, 浓度分别为 1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0  $\mu\text{mol/L}$ , 空白组加入无血清 DMEM 培养基, 每孔 100  $\mu\text{L}$ , 每组设置 3 个复孔。培养 24 h 后, 每孔加入 CCK-8 试剂 10  $\mu\text{L}$ , 培养 1 h 后用酶标仪测定 450 nm 波长处各孔的光

密度(optical density, OD)。细胞存活率(%) = 给药组平均 OD 值/空白组平均 OD 值  $\times 100\%$ 。结果显示, 4 个炔醇类化合物均对 RAW264.7 细胞无细胞毒作用。

2.3.3 NO 含量测定 用 Griess 法进行检测。将 RAW 264.7 细胞置于 96 孔板中, 调整细胞密度为  $5 \times 10^4$  个/孔, 设置空白组、模型组和给药组, 给药和造模同时进行(给药剂量和造模剂量依据预实验结果设置)。培养 24 h 后弃上清液, 空白组加入无血清 DMEM 培养基, 模型组加入含脂多糖(1  $\mu\text{g/mL}$ )的无血清 DMEM 培养基, 给药组加入用无血清 DMEM 培养基配制的含不同浓度的炔醇类化合物(3.13、6.25、12.5、25.0、50.0  $\mu\text{mol/L}$ )和脂多糖(1  $\mu\text{g/mL}$ ), 每孔 100  $\mu\text{L}$ , 每组设置 3 个复孔。培养 24 h 后取细胞上清液在 540 nm 波长处测定 OD 值从而计算 NO 的含量。除化合物 10 以外, 其他 3 种炔醇类化合物对 NO 含量均无降低作用。与模型组相比, 化合物 10 在给药浓度为 12.5、25.0、50.0  $\mu\text{mol/L}$  时, 可显著逆转脂多糖诱导的细胞上清液中 NO 含量的升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结果见表 1。

表 1 化合物 10 对 RAW 264.7 细胞上清液中 NO 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $\mu\text{mol/L}$ ,  $n=3$ )

组别(给药浓度)	NO 含量	组别(给药浓度)	NO 含量
空白组	1.93 $\pm$ 0.65	给药组(12.5 $\mu\text{mol/L}$ )	19.73 $\pm$ 2.76 <sup>b</sup>
模型组	27.49 $\pm$ 1.89 <sup>a</sup>	给药组(25.0 $\mu\text{mol/L}$ )	15.71 $\pm$ 4.88 <sup>b</sup>
给药组(3.13 $\mu\text{mol/L}$ )	23.53 $\pm$ 2.75	给药组(50.0 $\mu\text{mol/L}$ )	7.21 $\pm$ 1.71 <sup>c</sup>
给药组(6.25 $\mu\text{mol/L}$ )	23.58 $\pm$ 4.07		

a: 与空白组比较,  $P < 0.01$ ; b: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与模型组比较,  $P < 0.01$

2.3.4 COX-2 蛋白表达测定 采用 Western blot 法进行检测。将 RAW 264.7 细胞接种于 6 孔板中, 设置空白组、模型组和给药组, 给药和造模同时进行(给药剂量和造模剂量依据“2.3.3”项下结果设置)。培养 24 h 后, 空白组加入不含药的 DMEM 培养基, 模型组加入脂多糖(1  $\mu\text{g/mL}$ ), 给药组加入不同浓度的化合物 10(12.5、25.0、50.0  $\mu\text{mol/L}$ )和脂多糖(1  $\mu\text{g/mL}$ ), 每组设置 3 个复孔。培养 24 h 后, 于冰盒上将上清液吸出, 用 PBS 清洗细胞, 加入 RIPA 裂解液处理 30 min, 以 12 000 r/min 离心 15 min 后检测蛋白浓度。将蛋白高温变性后, 用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 转至聚偏二氟乙烯膜上, 取出, 用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 在 4 °C 环境下与  $\beta$ -actin 抗体(稀释比例为 1:3 000)、COX-2 抗体(稀释比例为 1:5 000)共同孵育过夜; 用 TBST 洗涤 3 次后将聚偏二氟乙烯膜与辣根过氧化物酶标记二抗(稀释比例为 1:5 000)在 37 °C 孵育 2 h, 再用 TBST 洗涤 3 次后用显影仪检测相应的蛋白条带。用 Image J 1.8.0 软件分析各条带灰度值, 以 COX-2 蛋白与  $\beta$ -actin 蛋白灰度值的比值作为 COX-2 蛋白表达量。结果见图 1。与空白组比较, 模型组 COX-2 蛋白表达量升高( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 化合物 10 在给药浓度为 50.0  $\mu\text{mol/L}$  时能显著降低细胞中 COX-2 蛋白表达量( $P < 0.05$ )。

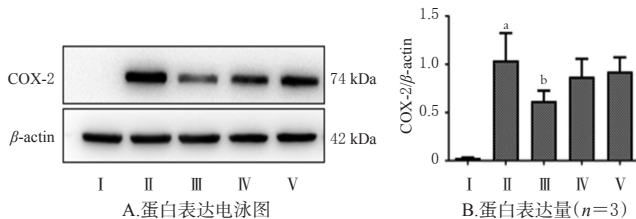


图1 化合物10对RAW 264.7细胞炎症模型中COX-2蛋白表达的影响

### 3 讨论

参附注射液根据古方“参附汤”经现代工艺提取制备而成,已连续3次被遴选为全国中医医院急诊必备中成药。目前关于参附注射液的化学研究以液质分析为主,对其中的成分分离研究较少。为深入明确参附注射液的药效物质基础,本研究应用大孔吸附树脂柱色谱、中压液相色谱、制备薄层色谱、半制备液相色谱、质谱、<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR等手段对参附注射液的化学成分进行了分离和结构鉴定,共鉴定12个化合物,包括8个人参皂苷类化合物(化合物1~8)、4个人参炔醇类化合物(化合物9~12),其中化合物4、7、10~12均首次在参附注射液中鉴定并报道。本研究丰富了对参附注射液化学成分的认识,首次明确了人参炔醇类化合物是参附注射液中的重要组成。

人参皂苷类化合物是参附注射液的重要有效成分,目前主要以人参总皂苷的含量测定对参附注射液进行质量控制。本研究通过系统的化学成分研究发现,参附注射液中人参皂苷类成分含量高、种类较多,同时也含有丰富的聚炔类成分,但有关该类成分的研究报道较少,仅Yang等<sup>[9]</sup>应用高效液相-四极杆飞行时间串联质谱技术分析得出参附注射液中含有人参炔三醇。现代研究发现,人参炔醇类成分也具有较好的药理活性,如人参总炔醇对肺癌细胞株A549具有抑制作用<sup>[17]</sup>,人参炔醇对于小鼠心肌缺血再灌注损伤具有保护作用、对正常大鼠心脏有负性肌力作用<sup>[18-19]</sup>等。可见,人参炔醇类成分是一类重要的活性物质。本研究采用脂多糖复制RAW 264.7细胞炎症模型,发现化合物10(人参环氧炔醇)具有明显的抗炎活性,能显著降低模型细胞中升高的NO含量和COX-2蛋白表达量。综合文献报道及本实验研究,笔者推测人参炔醇类化合物与参附注射液的药理作用具有一定的相关性。建议今后学者在开展参附注射液中药效物质基础研究和质量标准控制研究时,不应只局限于人参皂苷类成分,也应该重视对人参炔醇类成分的开发研究。

### 参考文献

[1] 汪朝晖,廖玉华.如何评价心血管病中的炎症因子与炎症标志物[J].临床心血管病杂志,2007,23(1):1-2.  
[2] 于宁.参附注射液治疗心力衰竭的系统评价[J].中国实用

医药,2019,14(32):87-88.

[3] YANG H, LIU L, GAO W, et al. Direct and comprehensive analysis of ginsenosides and diterpene alkaloids in Shenfu injection by combinatory liquid chromatography-mass spectrometric techniques[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 92:13-21.  
[4] 杨瑞杰.参附注射液化学成分研究[D].长春:吉林大学,2012.  
[5] 赵萱,傅超美,曹丽梅,等.参附注射液化学成分与药理作用研究进展[J].中药与临床,2018,9(2):70-74.  
[6] 袁海英,蔡帮军,侯新莲,等.一测多评法测定参附注射液中6种人参皂苷的含量[J].中国测试,2020,46(2):50-55.  
[7] 曹丽梅,赵萱,刘婷婷,等.HPLC法同时测定参附注射液中五种人参皂苷的含量[J].中药与临床,2016,7(6):22-24.  
[8] 陈开杰.HPLC法同时测定参附注射液中人参皂苷Rg<sub>1</sub>、Rb<sub>1</sub>的含量[J].中国药房,2014,25(40):3827-3829.  
[9] 周琪乐,徐崑,杨秀伟.中国红参化学成分研究[J].中国中药杂志,2016,41(2):233-249.  
[10] TENG R W, LI H Z, CHEN J T, et al. Complete assignment of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR data for nine protopanaxatriol glycosides[J]. Magn Reson Chem, 2002, 40(7):483-488.  
[11] QU Y, LIU H Y, GUO X X, et al. Converting ginsenosides from stems and leaves of *Panax notoginseng* by microwave processing and improving their anticoagulant and anticancer activities[J]. RSC Adv, 2018, 8(70):40471-40482.  
[12] 曾江,崔秀明,周家明,等.三七根茎的化学成分研究[J].中药材,2007,30(11):1388-1391.  
[13] ATOPKINA L N, DENISENKO V A. Synthesis of panaxatriol glucosides[J]. Chem Nat Compd, 2009, 45(5):664-672.  
[14] YANG M C, SEO D S, CHOI S U, et al. Polyacetylenes from the roots of cultivated-wild ginseng and their cytotoxicity *in vitro*[J]. Arch Pharm Res, 2008, 31(2):154-159.  
[15] YAN Z H, YANG R L, JIANG Y, et al. Induction of apoptosis in human promyelocytic leukemia HL60 cells by panaxynol and panaxydol[J]. Molecules, 2011, 16(7):5561-5573.  
[16] SHIM S C, CHANG S K, HUR C W, et al. A polyacetylenic compound from *Panax ginseng* roots[J]. Phytochemistry, 1987, 26(10):2849-2850.  
[17] 李杰.人参须根中人参炔醇的结构确证及对肺癌细胞株A549的诱导分化作用研究[D].重庆:重庆理工大学,2011.  
[18] 伏秋,马丹丹,佟岩,等.人参炔醇通过Nrf2/ARE通路调控小鼠心肌缺血再灌注损伤[J].解剖科学进展,2021,27(2):143-146.  
[19] 李海清,刘蓉,赵倩倩,等.人参炔醇对大鼠心功能的影响[J].中国医学创新,2016,13(17):1-7.

(收稿日期:2022-03-03 修回日期:2022-07-01)  
(编辑:曾海蓉)