

- series of new simplified fumitremorgin C analogues[J]. *Tetrahedron*, 2007, 63(25): 5510-5528.
- [20] 王心龙, 向斌, 李亚美, 等. 美洲大蠊的含氮成分及其促创面愈合相关活性研究[J]. 中国现代中药, 2018, 20(1): 20-25; 28.
- [21] Noda N, Kubota S, Miyata Y, et al. Optically active *N*-acetyl dopamine dimer of the crude drug "Zentai", the cast-off shell of the cicada, *Cryptotympana* sp[J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(11): 1749-1752.
- [22] Xu M Z, Lee W S, Han J M, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *N*-acetyl dopamine dimers from *Periostracum Cicadae* [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2006, 14(23): 7826-7834.
- [23] Rakesh Kumar E E K L. Synthesis and anti-HIV activity of 3'-O-formyl derivatives of thymidine and 2'-deoxyuridine [J]. *Nucleos Nucleot*, 2006, 11(6): 1219-1228.
- [24] 张祖湘, 王亚凤, 张瑛, 等. 黑蛞蝓化学成分研究(Ⅱ)[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(1): 63-69.

黄腺香青黄酮类成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

郑泽江¹, 吴机伶^{1,2#}, 李彪³, 程凡¹, 黄年玉¹, 郭志勇¹, 陈剑锋¹, 刘呈雄¹, 尉小琴^{1*}, 周兰^{1*}, 邹坤¹

(1. 天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 三峡大学生物与制药学院, 湖北 宜昌 443002; 2. 三峡大学健康医学院, 湖北 宜昌 443002; 3. 宜昌市夷陵区公共检验检测中心, 湖北 宜昌 443002)

摘要: 目的 研究黄腺香青的黄酮类成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性。方法 采用 Sephadex LH-20、硅胶及半制备 HPLC 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 PNPG 法测定 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结果 从中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为 quercetin-3-methyl ether (1)、quercetin-7-O-glucoside (2)、7-O-methylquercetin-6-O- β -D-glucopyranoside (3)、quercetin-3-glucoside (4)、kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (5)、kampferol-3-O-(6"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside (6)、3-O-kaempferol-3-O-acetyl-6-O-(*p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside (7)、kaempferol-3-O-(6"-O-feruloyl-4"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside (8)、kaempferol-3-O-(6"-O-E-*p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside (9)、quercetin-3-O- β -6"(*p*-coumaroyl) glucopyranoside-3'-methyl (10)、kaempferol-3-O-(6-O-caffeyl)- β -D-glucoside (11)、gala-ngin-8-methyl ether (12)、quercetin-4'-O- β -D-glucoside (13)。化合物 1~2、4~11、13 的 IC₅₀ 值为 (2.39±0.08) ~ (85.38±1.10) μ mol/L。结论 化合物 2~4、6~7、10~12 为首次从香青属中分离得到, 1~8、10~13 为首次从该植物中分离得到。化合物 1~2、4~11、13 具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

关键词: 黄腺香青; 黄酮; 分离鉴定; α -葡萄糖苷酶; 抑制活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)12-4004-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.018

Flavonoids from *Anaphalis aureopunctata* and their α -glucosidase inhibitory activity

ZHENG Ze-jiang¹, WU Ji-ling^{1,2#}, LI Biao³, CHENG Fan¹, HUANG Nian-yu¹, GUO Zhi-yong¹, CHEN Jian-feng¹, LIU Cheng-xiong¹, YU Xiao-qin^{1*}, ZHOU Lan^{1*}, ZOU Kun¹

收稿日期: 2025-06-04

基金项目: 国家自然科学基金(青年)(82204237); 湖北省中央引导地方科技发展资金项目(2024BSB016); 天然产物研究与利用湖北省重点实验室(2024NPRD01, 2024NPRD06)

作者简介: 郑泽江(1999—), 男, 硕士生, 研究方向为天然产物开发与利用。E-mail: 1071704932@qq.com

#共同第一作者: 吴机伶(1996—), 女, 硕士生, 研究方向为天然产物研究与利用。E-mail: 2671481523@qq.com

*通信作者: 尉小琴(1992—), 女, 博士, 讲师, 从事药用植物及微生物次级代谢产物研究。Tel: 18972536670, E-mail: 262480010@qq.com

周兰(1993—), 女, 博士后, 讲师, 从事微生物功能开发与资源利用研究。Tel: 15827549756, E-mail: zhoulan@ctgu.edu.cn

(1. Hubei Key Laboratory of Natural Product Research and Development, College of Biological and Pharmaceutical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 2. College of Medicine and Health Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 3. Public Inspection and Testing Center of Yiling District, Yichang 443002, China)

ABSTRACT: AIM To study the flavonoids from *Anaphalis aureopunctata* Lingelsh. & Borza and their α -glucosidase inhibitory activity. METHODS Separation and purification were performed using Sephadex LH-20, silica gel and semi-preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The α -glucosidase inhibitory activity was determined by PNPG method. RESULTS Thirteen compounds were isolated and identified as quercetin-3-methyl ether (1), quercetin-7-O-glucoside (2), 7-O-methylquercetin-6-O- β -D-glucopyranoside (3), quercetin-3-glucoside (4), kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside (5), kaempferol-3-O-(6"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside (6), 3-O-kaempferol-3-O-acetyl-6-O-(*p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside (7), kaempferol-3-O-(6"-O-feruloyl-4"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside (8), kaempferol-3-O-(6"-O-*E*-*p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside (9), quercetin-3-O- β -6"(*p*-coumaroyl) glucopyranoside-3'-methyl (10), kaempferol-3-O-(6-O-caffeyl)- β -D-glucoside (11), galangin-8-methyl ether (12), and quercetin-4'-O- β -D-glucoside (13). IC₅₀ values of compounds 1–2, 4–11, and 13 were (2.39±0.08)–(85.38±1.10) μ mol/L. CONCLUSION Compounds 2–4, 6–7 and 10–12 are isolated from genus *Anaphalis* for the first time, 1–8 and 10–13 are first isolated from this plant. Compounds 1–2, 4–11 and 13 have α -glucosidase inhibitory activity.

KEY WORDS: *Anaphalis aureopunctata* Lingelsh. & Borza; flavonoids; isolation and identification; α -glucosidase; inhibitory activity

黄腺香青 *Anaphalis aureopunctata* Lingelsh. & Borza 是菊科香青属植物, 为我国的特有植物, 分布较为广泛, 多生长于海拔1 000~2 700 m 的山地和湿地^[1-2]。香青属植物在民间应用历史悠久, 可全草入药, 具有清热解毒、杀菌消炎的功效, 可用于祛痰、镇咳、平喘、止痢等^[3-4]。研究表明, 香青属植物大多含有黄酮类、吡喃酮类、内酯类及萜类等化学成分^[5-6], 药理活性包括镇咳、祛痰、消炎、抗氧化、镇静等^[7-8]。然而, 关于黄腺香青的化学成分及生物活性的研究较少。因此, 本研究对黄腺香青乙醇提物的黄酮类成分进行分离鉴定, 并探究其对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性, 以期丰富该植物的成为黄腺香青的开发利用提供参考依据。结果从黄腺香青乙醇提物中分离得到13个黄酮类化合物, 并其中化合物1~2、4~11、13具有一定度的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 表明黄腺香青中的黄酮类化合物可能具有潜在的药用价值。

1 材料

LC-2030C 3D Plus 高效液相色谱仪(日本岛津公司); P2050 半制备液相色谱仪(广州睿柏仪器科技有限公司); AV 400 核磁共振波谱仪(瑞士Bruker公司); Anton paar MCP 5100 高精度旋光仪(奥地利Anton Paar公司); C₁₈反相色谱硅胶(日本YMC公司); 正相色谱硅胶(烟台市化学工业

研究所); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 (美国GE公司); Cosmosil MS-II RP-C₁₈色谱柱(250 mm×10 mm, 10 μ m, 半制备型; 250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 分析型)(日本Cosmosil公司); α -葡萄糖苷酶、阿卡波糖、对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)、PBS缓冲液(上海源叶生物科技有限公司)。

实验用黄腺香青采自湖北神农架, 由三峡大学生物与制药学院王玉兵教授鉴定为菊科香青属植物黄腺香青 *Anaphalis aureopunctata* Lingelsh. & Borza的全草, 凭证标本(编号2022SNJ01)保存于湖北省天然产物研究与利用重点实验室。

2 提取与分离

取干燥的黄腺香青全草2.5 kg, 粉碎, 加10倍量的95%乙醇, 加热回流提取3次, 每次2 h, 合并提取液, 减压浓缩, 得总浸膏221.9 g。总浸膏用水分散后, 依次用等体积石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 萃取液减压浓缩后得石油醚部位45.8 g、乙酸乙酯部位36.8 g、正丁醇部位25.4 g、水部位92.0 g。

石油醚部位经硅胶柱(100~200目)分离, 以石油醚-乙酸乙酯(100:0~0:100)梯度洗脱, 得到45个组分(Fr. 1~Fr. 45)。Fr. 30(2.3 g)经Sephadex LH-20(流动相二氯甲烷-甲醇1:1)分

离, 得到 Fr. 30-1~Fr. 30-10, Fr. 30-10 (0.1 g) 经半制备 HPLC (流动相乙腈-水 55 : 45) 分离, 得到化合物 **12** (6 mg, $t_R = 18.0$ min)

乙酸乙酯部位经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100 : 0~0 : 100) 梯度洗脱, 得到 49 个组分 (Fr. 1~Fr. 49)。Fr. 20 (1.5 g) 经 Sephadex LH-20 分离, 采用湿法上样, 以甲醇洗脱, 得到 Fr. 20-1~Fr. 20-10, Fr. 20-5 (176.0 mg) 经半制备 HPLC (流动相甲醇-水 70 : 30) 分离, 得到化合物 **7** (4.7 mg, $t_R = 19.0$ min) 和 **8** (6 mg, $t_R = 25.8$ min); Fr. 20-7 (41.0 mg) 用半制备 HPLC (流动相甲醇-水 68 : 32) 纯化, 得到化合物 **9** (11 mg, $t_R = 11.9$ min); Fr. 20-9 (35.0 mg) 用半制备 HPLC (流动相甲醇-水 70 : 30) 纯化, 得到化合物 **1** (3.3 mg, $t_R = 13.4$ min)。Fr. 22 (1.1 g) 经 Sephadex LH-20 分离, 采用湿法上样, 以甲醇洗脱, 得到 Fr. 22-1~Fr. 22-12, Fr. 22-5 (49.4 mg) 用半制备 HPLC (流动相乙腈-水 55 : 45) 分离, 得到化合物 **6** (5 mg, $t_R = 11.3$ min); Fr. 22-7 (172.0 mg) 经 HPLC 验证, 纯度较高, 记为化合物 **10** (172.0 mg)。Fr. 39 (1.4 g) 经 Sephadex LH-20 分离, 采用湿法上样, 以甲醇洗脱, 得到 Fr. 39-1~Fr. 39-10, Fr. 39-5 (57.0 mg) 用半制备 HPLC (流动相乙腈-水 50 : 50) 分离, 得到化合物 **11** (11 mg, $t_R = 17.3$ min)。

正丁醇部位经反相硅胶柱分离, 以甲醇-水 (10 : 90~100 : 0) 梯度洗脱, 得到 17 个组分 (Fr. 1~Fr. 17)。Fr. 5 (1.5 g) 经 Sephadex LH-20 分离, 以甲醇洗脱, 得到 Fr. 5-1~Fr. 5-12, Fr. 5-5 (69.6 mg) 用半制备 HPLC (流动相甲醇-水 40 : 60) 分离, 得到化合物 **5** (3 mg, $t_R = 32.8$ min)。Fr. 6 (1.0 g) 经 Sephadex LH-20 分离, 以甲醇洗脱, 得到 Fr. 6-1~Fr. 6-9, Fr. 6-4 (126.5 mg) 用半制备 HPLC (流动相甲醇-水 40 : 60) 分离, 得到化合物 **2** (2 mg, $t_R = 22.3$ min)、**3** (3 mg, $t_R = 32.8$ min) 和 **4** (3 mg, $t_R = 37.6$ min)。Fr. 12 (0.9 g) 经 Sephadex LH-20 分离, 以甲醇洗脱, 得到 Fr. 12-1~Fr. 12-8, Fr. 12-4 (25.6 mg) 用半制备 HPLC (流动相甲醇-水 40 : 60) 分离, 得到化合物 **13** (12 mg, $t_R = 25.4$ min)。半制备 HPLC 的体积流量均为 3 mL/min, 检测波长均为 254 nm

3 结构鉴定

化合物 1: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 317.0 [$M+H$]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ :

12.71 (1H, s, 5-OH), 7.54 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.44 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.77 (3H, s, OCH₃); ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177.9 (C-4), 164.1 (C-7), 161.3 (C-5), 156.3 (C-9), 155.6 (C-2), 148.7 (C-4'), 145.2 (C-3'), 137.7 (C-3), 120.8 (C-1'), 120.6 (C-6'), 115.7 (C-2'), 115.4 (C-5'), 104.2 (C-10), 98.5 (C-6), 93.6 (C-8), 59.6 (OCH₃)。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为 quercetin-3-methyl ether。

化合物 2: 黄色晶体, ESI-MS m/z : 465.1 [$M+H$]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.75 (1H, s, H-2'), 7.65 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.74 (1H, s, H-8), 6.45 (1H, s, H-6), 5.04 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1''); ¹³C-NMR (101 MHz, CD₃OD) δ : 177.5 (C-4), 164.5 (C-7), 162.2 (C-5), 157.7 (C-9), 149.0 (C-2), 148.8 (C-4'), 146.3 (C-3), 137.6 (C-3), 124.0 (C-1), 121.9 (C-6'), 116.3 (C-2'), 116.2 (C-5''), 106.3 (C-10), 101.7 (C-1''), 100.2 (C-6), 95.6 (C-8), 78.4 (C-5''), 77.9 (C-3''), 74.8 (C-2''), 71.3 (C-4''), 62.5 (C-6'')。以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为 quercetin-7-O-glucoside。

化合物 3: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 495.1 [$M+H$]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.77 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.68 (1H, dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, H-6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5', 8), 5.11 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 3.89 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (101 MHz, CD₃OD) δ : 177.6 (C-4), 157.7 (C-7), 153.2 (C-5, 9), 149.1 (C-2, 4'), 146.3 (C-3'), 137.4 (C-3), 133.4 (C-6), 123.9 (C-1'), 121.9 (C-6'), 116.2 (C-2'), 116.2 (C-5'), 106.7 (C-10), 102.0 (C-1), 95.4 (C-8), 78.5 (C-3), 78.0 (C-5), 74.8 (C-2), 71.3 (C-4), 62.5 (C-6), 61.5 (-OCH₃)。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为 7-O-methylquercetagetin-6-O-β-D-glucopyranoside。

化合物 4: 无定形粉末, ESI-MS m/z : 465.1

$[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.70 (1H, s, H-2'), 7.57 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.38 (1H, s, H-8), 6.17 (1H, d, J = 12.7 Hz, H-6), 5.24 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-1), 3.71 (1H, dd, J = 11.8, 2.0 Hz, H-6a), 3.57 (1H, dd, J = 11.9, 5.2 Hz, H-6b), 3.47 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-2), 3.42 (1H, t, J = 8.8 Hz, H-3), 3.35 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-4), 3.25 ~ 3.18 (1H, m, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_3OD) δ : 179.5 (C-4), 166.0 (C-7), 163.0 (C-5), 159.0 (C-9), 158.4 (C-2), 149.8 (C-3'), 145.9 (C-4'), 135.6 (C-3), 123.2 (C-1'), 123.0 (C-6'), 117.6 (C-5'), 116.0 (C-2'), 105.7 (C-10), 104.3 (C-1''), 99.9 (C-6), 94.7 (C-8), 78.4 (C-5''), 78.1 (C-3''), 75.7 (C-2''), 71.2 (C-4''), 62.5 (C-6'')。

以上数据与文献[12]报道基本一致，故鉴定为 quercentin 3-glucoside。

化合物5：浅黄色粉末，ESI-MS m/z : 449.1 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.06 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 5.25 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-1''), 3.69 (1H, dd, J = 8.3, 3.5 Hz, H-6'a), 3.53 (1H, dd, J = 11.9, 5.4 Hz, H-6'b), 3.47 ~ 3.44 (1H, m, H-2''), 3.42 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-3''), 3.35 ~ 3.32 (1H, m, H-4''), 3.23 ~ 3.18 (1H, m, H-5''); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_3OD) δ : 178.1 (C-4), 165.0 (C-7), 160.2 (C-5), 160.1 (C-4'), 157.6 (C-2), 157.1 (C-9), 134.0 (C-3), 130.9 (C-2', 6'), 121.4 (C-1'), 114.7 (C-3', 5'), 104.2 (C-10), 102.7 (C-1''), 102.2 (C-6), 93.4 (C-8), 77.0 (C-3''), 76.6 (C-5''), 74.3 (C-2''), 69.9 (C-4''), 61.2 (C-6'')。

以上数据与文献[13]报道基本一致，故鉴定为 kaempferol-3-O- β -D-glucopyranoside。

化合物6：浅黄色粉末，ESI-MS m/z : 491.1 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.04 (2H, dd, J = 11.9, 8.9 Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, t, J = 9.8 Hz, H-3', 5'), 6.40 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-6), 5.16 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 4.22 ~

3.64 (6H, m, 糖上氢), 2.66 (s, 3H, -OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_3OD) δ : 179.3 (C-4), 172.5 (-COCH₃), 166.7 (C-7), 163.0 (C-5), 161.6 (C-4'), 159.3 (C-2), 158.6 (C-9), 135.3 (C-3), 132.3 (C-2', 6'), 122.7 (C-1'), 116.1 (C-3'), 116.0 (C-5'), 104.3 (C-10), 104.1 (C-1''), 100.1 (C-6), 94.9 (C-8), 77.9 (C-3''), 75.7 (C-5''), 75.5 (C-2''), 71.3 (C-4''), 64.3 (C-6''), 20.5 (-OCH₃)。以上数据与文献[14]报道基本一致，故鉴定为 kampferol-3-O-(6'-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside。

化合物7：黄色结晶性粉末，ESI-MS m/z : 651.2 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.99 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-2', 6'), 7.41 (1H, d, J = 15.9 Hz, coumaroyl, H- β), 7.32 (2H, d, J = 8.6 Hz, coumaroyl, H-2'', 6''), 6.83 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-3', 5'), 6.80 (2H, d, J = 8.6 Hz, coumaroyl, H-3'', 5''), 6.32 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.14 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-6), 6.08 (1H, d, J = 15.9 Hz, coumaroyl, H- α), 5.34 (1H, d, J = 7.9 Hz, Glu, H-1''), 5.03 (1H, dd, J = 16.3, 7.0 Hz, Glu, H-3''), 4.30 (1H, dd, J = 11.8, 2.1 Hz, Glu, H-6''), 4.22 (1H, dd, J = 11.9, 6.3 Hz, Glu, H-5''), 3.64 ~ 3.53 (1H, m, Glu, H-4''), 3.48 (1H, t, J = 9.5 Hz, Glu, H-2''), 2.14 (3H, s, 3''-acetyl, CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_3OD) δ : 179.3 (C-4), 168.7 (3''-acetyl, COO), 166.2 (C-9''), 163.0 (C-7), 161.6 (C-5), 161.2 (C-4'), 159.3 (coumaroyl, C-4''), 158.4 (C-2, 9), 146.6 (coumaroyl, C- β), 135.1 (C-3), 132.2 (C-2', 6'), 131.2 (coumaroyl, C-2'', 6''), 127.1 (coumaroyl, C-1''), 122.6 (C-1'), 116.8 (coumaroyl, C-3'', 5''), 116.1 (C-3', 5'), 114.6 (coumaroyl, C- α), 105.5 (C-10), 103.6 (Glu, C-1''), 100.1 (C-6), 94.9 (C-8), 78.8 (Glu, C-5''), 75.6 (Glu, C-2''), 74.0 (Glu, C-4''), 70.0 (Glu, C-3''), 64.0 (Glu, C-6''), 21.1 (3''-acetyl, CH₃)。以上数据与文献[15]报道基本一致，故鉴定为 3-O-kaempferol-3-O-acetyl-6-O-(*p*-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside。

化合物8：黄色粉末，ESI-MS m/z : 681.2 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.87

(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd, $J=8.5, 1.9$ Hz, H-6'), 7.43~7.37 (1H, m, H-7''), 7.32 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2'', 6''), 6.86 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.79 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3'', 5''), 6.31 (1H, s, H-8), 6.14 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-6), 6.08~6.02 (1H, m, H-8''), 5.40 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1'), 4.18 (1H, dd, $J=12.2, 6.0$ Hz, H-6'a), 4.04 (1H, dd, $J=12.1, 2.3$ Hz, H-6'b), 3.94 (3H, s), 2.09 (3H, s); ^{13}C -NMR (101 MHz, CD₃OD) δ : 179.2 (C-4), 172.0 (CH₃-C=O), 168.4 (C-9''), 166.2 (C-7), 163.0 (C-5), 161.3 (C-4'), 158.9 (C-2), 158.4 (C-9), 151.0 (C-3''), 148.3 (C-4''), 146.8 (C-7''), 135.1 (C-3), 131.2 (C-2', 6'), 127.0 (C-1''), 123.9 (C-6''), 122.9 (C-1'), 116.8 (C-3', 5'), 116.0 (C-5''), 114.4 (C-8''), 114.3 (C-2''), 105.6 (C-10), 103.8 (C-1''), 100.0 (C-6), 94.9 (C-8), 75.9 (C-3''), 75.7 (C-5''), 73.6 (C-2''), 72.3 (C-4''), 63.2 (C-6''), 56.7 (OCH₃), 20.9 (CH₃-C=O)。以上数据与文献[16]报道基本一致, 故鉴定为 kaempferol-3-O-(6''-O-feruloyl-4''-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside。

化合物9: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 595.1 [M+H]⁺。 ^1H -NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.98 (2H, d, $J=8.9$ Hz, H-2', 6'), 7.43~7.37 (1H, m, H-7''), 7.29 (2H, t, $J=7.9$ Hz, H-2'', 6''), 6.85~6.75 (4H, m, H-3', 5', 3'', 5''), 6.30 (1H, s, H-8), 6.13 (1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6), 6.06 (1H, dd, $J=15.9, 8.0$ Hz, H-8''), 4.30 (1H, dt, $J=12.0, 6.1$ Hz, H-6''), 4.24~4.14 (1H, m), 3.52~3.32 (4H, m); ^{13}C -NMR (101 MHz, CD₃OD) δ : 179.4 (C-4), 168.8 (C-9''), 165.9 (C-7), 162.9 (C-5), 161.5 (C-4''), 161.2 (C-4'), 159.3 (C-2), 158.4 (C-9), 146.5 (C-7''), 135.2 (C-3), 132.2 (C-2', 6'), 131.2 (C-2'', 6''), 127.1 (C-1''), 122.7 (C-1'), 116.8 (C-3'', 5''), 116.0 (C-3', 5'), 114.7 (C-8''), 105.6 (C-10), 103.9 (C-1''), 99.9 (C-6), 94.8 (C-8), 78.0 (C-3''), 75.8 (C-5''), 75.7 (C-2''), 71.7 (C-4''), 64.3 (C-6')。以上数据与文献[17]报道基本一致, 故鉴定为 kaempferol-3-O-(6''-O-E-p-coumaroyl)- β -D-glucopyranoside。

化合物10: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 641.1 [M+H]⁺。 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ : 7.78 (1H, d, $J=9.1$ Hz, H-2'), 7.46 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H-6'), 7.31 (1H, t, $J=13.2$ Hz, C-7''), 7.20 (2H, d, $J=8.2$ Hz, C-2'', 6''), 6.76 (1H, d, $J=4.7$ Hz, H-5'), 6.73 (2H, d, $J=8.7$ Hz, C-3'', 5''), 6.17 (1H, s, H-8), 6.07 (1H, s, H-6), 6.01 (1H, d, $J=15.9$ Hz, C-8''), 5.32 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-1''), 3.84 (2H, d, $J=5.6$ Hz, glucosyl-H, H-2'', 6''); ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ : 177.4 (C-4), 166.4 (C-9''), 164.6 (C-7), 161.2 (C-5), 159.9 (H-4''), 156.4 (C-2), 156.3 (C-9), 149.6 (C-4'), 147.0 (C-3'), 144.8 (C-7''), 133.0 (C-3), 132.7 (C-2''), 130.3 (C-6''), 125.0 (C-1''), 122.4 (C-1'), 121.0 (C-6'), 115.9 (C-3''), 115.3 (C-5''), 114.9 (C-5'), 113.6 (C-8''), 113.4 (C-2'), 103.9 (C-10), 101.1 (C-1''), 99.0 (C-6), 93.9 (C-8), 76.3 (C-3''), 74.4 (C-2''), 74.3 (C-5''), 70.2 (C-4''), 63.1 (C-6'), 55.8 (C-3'-OCH₃)。以上数据与文献[18]报道基本一致, 故鉴定为 quercetin-3-O- β -6''-(*p*-coumaroyl)-glucopyranoside-3'-methyl。

化合物11: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 611.1 [M+H]⁺。 ^1H -NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.62~7.55 (2H, m, H-2', 6'), 7.39 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7''), 7.31 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'', 6''), 6.81 (2H, s, H-3', 5'), 6.79 (1H, s, H-5''), 6.30 (1H, s, H-8), 6.16 (1H, d, $J=24.7$ Hz, H-6), 6.08 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8''), 5.27 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1''), 4.32 (1H, d, $J=10.3$ Hz, H-6'a), 4.20 (1H, dd, $J=11.8, 6.7$ Hz, H-6'b), 3.53~3.44 (3H, m, H-2'', 3'', 5''), 3.36 (1H, d, $J=9.1$ Hz, H-4''); ^{13}C -NMR (101 MHz, CD₃OD) δ : 179.4 (C-4), 168.8 (C-9''), 165.9 (C-7), 162.9 (C-5), 161.1 (C-4'), 159.2 (C-2), 158.4 (C-9), 149.8 (C-4''), 146.5 (C-3''), 145.9 (C-7''), 135.2 (C-3), 131.2 (C-2', 6'), 127.1 (C-1''), 123.3 (C-6''), 123.1 (C-1'), 117.3 (C-5''), 116.8 (C-3', 5'), 115.9 (C-2''), 114.7 (C-8''), 105.6 (C-10), 103.7 (C-1'), 100.0 (C-6), 94.7 (C-8), 78.0 (C-3''), 75.8 (C-2''), 75.7 (C-5''), 71.7 (C-4''), 64.3 (C-6')。

(C-6")。以上数据与文献[19]报道基本一致,故鉴定为山柰酚-3-O-(6-O-咖啡酰基)-β-D-吡喃葡萄糖昔。

化合物12: 黄色晶体, ESI-MS m/z : 301.1 [$M+H$]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 8.26 (2H, d, $J=7.2$ Hz, H-2', 6'), 7.53 (2H, dt, $J=7.4$ Hz, H-3', 5'), 7.48 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-4'), 6.27 (1H, s, H-6), 3.92 (3H, s, 8-OCH₃);¹³C-NMR (101 MHz, CD₃OD): 177.9 (C-4), 158.3 (C-7), 157.6 (C-5), 150.4 (C-9), 146.9 (C-2), 138.6 (C-3), 132.7 (C-1'), 131.1 (C-4'), 129.6 (C-3', 5'), 129.0 (C-2', 6'), 128.7 (C-8), 104.6 (C-10), 99.5 (C-6), 61.9 (8-OCH₃)。以上数据与文献[20]报道基本一致,故鉴定为galangin-8-methyl ether。

化合物13: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 465.1 [$M+H$]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.71 (1H, s, H-2'), 7.66 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'), 7.24 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.37 (1H, s, H-8), 6.17 (1H, s, H-6), 5.00 (1H, d, $J=7.2$ Hz, Glu, H-1"), 3.50~4.12 (6H, m, Glu, H-2"~6");¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 176.1 (C-4), 164.2 (C-7), 160.9 (C-5), 156.7 (C-9), 146.7 (C-3'), 146.2 (C-4'), 145.6 (C-2), 136.5 (C-3), 126.1 (C-1'), 120.1 (C-6'), 116.0 (C-2'), 115.1 (C-5'), 103.2 (C-10), 101.8 (Glu, C-1"), 98.1 (C-6), 93.3 (C-8), 76.8 (Glu, C-3"), 76.0 (Glu, C-5"), 73.3 (Glu, C-2"), 69.9 (Glu, C-4"), 61.0 (Glu, C-6")。以上数据与文献[21]报道基本一致,故鉴定为quercetin-4'-O-β-D-glucoside。

4 α-葡萄糖苷酶抑制活性研究

参考文献[22]方法,用PBS将α-葡萄糖苷酶冻干粉溶解,调整酶活力为100 U/mL,4℃保存备用,临用现配,用PBS稀释成0.2 U/mL,即得α-葡萄糖苷酶溶液。取样品适量,用DMSO配制成10 mg/mL的母液,用PBS稀释至所需浓度,即得供试品溶液。精密称取PNPG 150.5 mg,置于100 mL量瓶中,加PBS溶解并定容至刻度,终浓度为5 mmol/L,即得PNPG溶液,4℃保存备用。精准称量Na₂CO₃粉末2.16 g,置于100 mL量瓶中,加水溶解并定容至刻度,最终浓度为0.2 mol/L,即得Na₂CO₃溶液,4℃保存备用。96孔板中加入50 μL待测样品溶液、50 μL α-葡萄糖苷酶溶液,混

匀,置于37℃恒温干燥箱中孵育20 min,加入50 μL PNPG溶液,孵育15 min,加入100 μL Na₂CO₃溶液终止反应,使用酶标仪测定各孔在405 nm波长处的吸光度。以阿卡波糖作为阳性对照,设置空白组、样品组,样品组以100 μmol/L的初始浓度进行初筛,按照公式(1)计算各化合物对α-葡萄糖苷酶抑制率,对于抑制率>50%的化合物,设置浓度梯度,并用GraphPad Prism软件计算IC₅₀值。由表1可知,化合物1~2、4~11、13具有一定程度的α-葡萄糖苷酶抑制活性,其中化合物10活性与阳性对照相当。

$$\text{抑制率} = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{样品空白}})/(A_{\text{酶活}} - A_{\text{酶空白}})] \times 100\% \quad (1)$$

表1 各化合物的IC₅₀值 (μmol/L, $\bar{x}\pm s$, n=5)

Tab. 1 IC₅₀ values of various compounds (μmol/L, $\bar{x}\pm s$, n=5)

化合物	IC ₅₀	化合物	IC ₅₀
1	28.33±0.44 **	8	8.21±0.13
2	70.63±0.73 **	9	49.08±0.27 **
3	>100 **	10	2.39±0.08
4	75.56±0.49 **	11	8.78±0.23
5	17.55±0.19 **	12	>100 **
6	85.38±1.10 **	13	56.53±0.32 **
7	9.53±0.20	阿卡波糖	3.62±0.03

注:与阿卡波糖比较, ** P<0.01。

5 讨论

本研究对黄腺香青的提取物进行分离纯化和结构鉴定,得到13个黄酮类单体化合物,对所有化合物进行α-葡萄糖苷酶抑制活性研究,结果显示化合物1~2、4~11、13都具有一定程度的α-葡萄糖苷酶抑制活性,其中化合物10的抑制活性尤为突出,其IC₅₀值接近阳性对照阿卡波糖,提示黄酮苷元的酰化修饰可能是增强其活性的关键因素。化合物10以槲皮素为苷元,其糖基(葡萄糖)的6"位被对香豆酰基(*p*-coumaroyl)酰化,同时苷元的3'位被甲基化。这种酰化修饰显著增加了分子的疏水性和空间体积,可能使其更容易与α-葡萄糖苷酶活性中心的疏水区域结合,或通过空间位阻效应更有效地阻碍底物与酶的结合,从而表现出更强的抑制能力。后续可对该化合物进行更深入的机制研究(如抑制动力学、分子对接)和结构优化,以期开发新型、源自天然产物的α-葡萄糖苷酶抑制剂。本研究丰富了黄腺香青的化学成分,可为后续进一步研究黄酮类化合物及香青属植物的降糖作用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志 (75 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 180.
- [2] 方志先, 廖朝林. 湖北恩施药用植物志: 下册[M]: 武汉: 湖北科学技术出版社, 2006; 448-450.
- [3] 何冬黎. 黄腺香青挥发油、总黄酮制备工艺及质量标准研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2012.
- [4] 罗荣耀, 张颖帆, 陈德坤, 等. 香青内生真菌 *Metapochonia bulbillosa* XQ-4 的次级代谢产物研究[J]. 中南药学, 2022, 20(10): 2217-2222.
- [5] Ikramov M T, Khalmatov K K, É Kh Batirov, et al. Flavonoids of *Anaphalis velutina*[J]. *Chem Nat Compd*, 1986, 22 (2): 230-231.
- [6] 任召言. 乳白香青、珠光香青和翅茎风毛菊化学成分研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2009.
- [7] 曹晓霞, 李翠芹, 王喆之. 翅茎香青中黄酮物质的提取及其抗氧化活性研究[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8 (4): 691-693.
- [8] 曹志群. 香青利胆煎治疗慢性胆囊炎 92 例[J]. 山东中医药大学学报, 2002, 26 (3): 199-200.
- [9] Narges P, Farahnaz K, Elahe S, et al. Bioassay-guided isolation of flavonoids from *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. and evaluation of their cytotoxicity[J]. *Iran J Pharm Res*, 2021, 20 (1): 274-282.
- [10] El-Ghazooly M G, El-Lakany A M, Abou-Shoer M I, et al. Chemical constituents of *Helichrysum conglobatum* growing in Egypt[J]. *Nat Prod Sci*, 2003, 4 (9): 213-219.
- [11] Senatore F, D Agostino M, Dini I. Two new quercetagetin-O-glucosides from *Tagetes mandonii*[J]. *Biochem Syst Ecol*, 1999, 27 (3): 309-311.
- [12] Rudi H, Anthony W, A P K. Phytochemical studies on the Australian native plant species *Acacia pycnantha* and *Jacaranda mimosifolia* D. Don. [J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33 (14): 1997-2003.
- [13] Kim H Y, Moon B H, Lee H J, et al. Flavonol glycosides from the leaves of *Eucommia ulmoides* O. with glycation inhibitory activity[J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 93 (2-3): 227-230.
- [14] Merfort I. Acetylated and other flavonoid glycosides from *Arnica chamissonis*[J]. *Phytochemistry*, 1988, 27 (10): 3281-3284.
- [15] Anon. A New acylated flavonoid from *Anaphalis aureo-punctata* [J]. *Chin Chem Lett*, 2003, 14 (1): 66-67.
- [16] Tai Z, Zhang F, Cai L, et al. Flavonol glycosides of *Pseudodrynaria coronans* and their antioxidant activity[J]. *Chem Nat Compd*, 2012, 48 (2): 221-224.
- [17] 田艳, 吴军, 张偲. 银叶树树叶中的黄酮类化合物(英文)[J]. 中国药学, 2004, 13 (3): 214-216.
- [18] Aderogba M A, Mcgaw L J, Bezabih M, et al. Isolation and characterisation of novel antioxidant constituents of *Croton zambesicus* leaf extract[J]. *Nat Prod Res*, 2011, 25 (13): 1224-1233.
- [19] 梁文娟, 马青云, 蒋合众, 等. 红毛丹果壳的化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42 (7): 1271-1275.
- [20] Proksch M, Proksch P, Weissenboeck G, et al. Flavonoids from the leaf resin of *Adenostoma sparsifolium*[J]. *Phytochemistry*, 1982, 21 (7): 1835-1836.
- [21] 顾承真, 李婷, 曾碧雪, 等. 分蘖洋葱化学成分及其抑菌活性[J]. 中成药, 2021, 43 (4): 936-939.
- [22] 吴椰, 高鹤萍, 毛燕妍, 等. 瓦尼桑黄固体发酵产物的化学成分及其生物活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36 (4): 607-615.