

## 药蜀葵茎叶化学成分及其体外抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和 5-脂氧合酶活性研究

薛涛涛<sup>1</sup>, 唐志书<sup>1,3</sup>, 段金廛<sup>2</sup>, 阮凯华<sup>1</sup>, 杨远贵<sup>1</sup>, 宋忠兴<sup>1</sup>, 许洪波<sup>1\*</sup>

1. 陕西中医药大学 陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心, 秦药特色资源研究开发国家重点实验室(培育), 陕西省中药产业研究院, 陕西 咸阳 712083
2. 南京中医药大学 江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023
3. 中国中医科学院研究生院, 北京 100700

**摘要:** 目的 对锦葵科蜀葵属植物药蜀葵 *Althaea officinalis* 茎叶的化学成分及其体外抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和 5-脂氧合酶活性进行研究。方法 运用 D101 大孔吸附树脂、硅胶柱、MCI 凝胶、Sephadex LH-20 以及半制备 HPLC 等多种色谱方法进行分离纯化, 根据波谱数据鉴定化合物的结构; 通过测定化合物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和 5-脂氧合酶体外抑制活性, 评价化合物的降血糖和抗炎作用。结果 从药蜀葵茎叶中共分离得到 24 个化合物, 分别鉴定为腺苷(1)、4-羟基-2,6-二甲氧基苯基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(2)、苜蓿基-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(3)、赤藓醇(4)、5-羟甲基-2-呋喃甲醛(5)、1-[5-(hydroxymethyl) furan-2-yl] ethenone(6)、黑麦草内酯(7)、isololiolide(8)、4-羟基苯甲醛(9)、对羟基苯甲酸甲酯(10)、催吐萝芙木醇(11)、(6S,7Z,9R)-roseoside(12)、二氢芥子醇(13)、3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propan-1-ol(14)、dihydrodehydrodiconifenyl alcohol(15)、齐墩果酸 3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(16)、紫云英苷(17)、反式银椴苷(18)、望春花黄酮醇苷(19)、apigenin 7-O-(6"-trans-p-coumaroyl- $\beta$ -D-glucopyranoside)(20)、香叶木素 7-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(21)、田蓟苷(22)、芒柄花素 7-葡萄糖苷(23)、acacetin 7-O-(6"-p-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside(24)。生物活性测试结果表明, 化合物 18、19、24 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>)为(12.2±1.3)、(2.8±0.6)、(31.1±3.9)  $\mu$ mol/L; 化合物 18、24 对 5-脂氧合酶的 IC<sub>50</sub>为(34.76±4.3)、(25.37±2.4)  $\mu$ mol/L。结论 化合物 1~16、18~24 为首次从该植物中分离获得。发现部分化合物具有较好的体外抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶(18、19、24)和 5-脂氧合酶(18、24)作用, 表明其具有潜在的降血糖活性和抗炎活性。

**关键词:** 药蜀葵; 黄酮;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶; 5-脂氧合酶; 反式银椴苷; 望春花黄酮醇苷; 田蓟苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)10-3060-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.10.003

## Chemical constituents from aerial part of *Althaea officinalis* and their inhibition activities *in vitro* toward $\alpha$ -glucosidase and 5-lipoxygenase

XUE Tao-tao<sup>1</sup>, TANG Zhi-shu<sup>1,3</sup>, DUAN Jin-ao<sup>2</sup>, RUAN Kai-hua<sup>1</sup>, YANG Yuan-gui<sup>1</sup>, SONG Zhong-xing<sup>1</sup>, XU Hong-bo<sup>1</sup>

1. Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, State Key Laboratory of Research and Development of Characteristic Resources of Qin Medicine, Shaanxi Institute of Traditional Chinese Medicine Industry, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China
2. Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization of Jiangsu Province, Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medical Formula Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
3. Graduate School of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** To study the chemical constituents from aerial part of *Althaea officinalis* and their inhibition activities *in vitro* toward  $\alpha$ -glucosidase and 5-lipoxygenase. **Methods** Chemical constituents were separated and purified by column chromatography

收稿日期: 2023-01-08

基金项目: 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2016KTTSSF01-06-01); 陕西省青年科技新星项目(2020KJXX-069); 现代农业产业技术体系建设专项基金项目(CARS-21)

作者简介: 薛涛涛(1994—), 男, 硕士, 研究方向为中药药剂。Tel: 18729079884 E-mail: xtt1221@email.sntcm.edu.cn

\*通信作者: 许洪波(1987—), 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药药效物质研究。Tel: (029)38182203 E-mail: xhb2005@sntcm.edu.cn

on D101 macroporous adsorption resin, silica gel, MCI gel, Sephadex LH-20, and semi-preparative RP-HPLC. The structures were characterized via spectroscopic data analysis. The inhibitory activities of the compounds against  $\alpha$ -glucosidase and 5-lipoxygenase *in vitro* were measured to evaluate its hypoglycemic and anti-inflammatory effects. **Results** Twenty-four compounds were isolated and identified as adenosine (1), leonurisode A (2), benzyl-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3), meso-erythritol (4), 5-hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde (5), 1-[5-(hydroxymethyl) furan-2-yl] ethenone (6), loliolide (7), isolololide (8), 4-hydroxybenzaldehyde (9), methyl 4-hydroxybenzoate (10), vomifoliol (11), (6*S*,7*Z*,9*R*)-roseoside (12), dihydrosyringenin (13), 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propan-1-ol (14), dihydrodehydrodiconifenyl alcohol (15), oleanolic acid 3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (16), astragalin (17), *trans*-tiliroside (18), biondnoid I (19), apigenin 7-*O*-(6''-*trans*-*p*-coumaroyl)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (20), diosmetin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (21), tilianin (22), formononetin 7-glucoside (23), acacetin 7-*O*-(6''-*p*-coumaroyl)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (24). The results of the bioactivity test showed that three of the 24 compounds (18, 19, 24) showed significant enzyme inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase [IC<sub>50</sub> values: (12.2 ± 1.3)  $\mu$ mol/L, (2.8 ± 0.6)  $\mu$ mol/L and (31.1 ± 3.9)  $\mu$ mol/L] and two compounds (18, 24) had significant enzyme inhibitory activity against 5-lipoxygenase with IC<sub>50</sub> values of (34.76 ± 4.3)  $\mu$ mol/L and (25.37 ± 2.4)  $\mu$ mol/L. **Conclusion** Compounds 1—16, 18—24 were isolated from *A. officinalis* for the first time. Furthermore, it was found that compounds have great inhibitory activities toward  $\alpha$ -glucosidase (18, 19, 24) and 5-lipoxygenase (18, 24), which show potential hypoglycemic activity and anti-inflammatory activity.

**Key words:** *Althaea officinalis* Linn.; flavonoid;  $\alpha$ -glucosidase; 5-lipoxygenase; *trans*-tiliroside; biondnoid I; tilianin

药蜀葵 *Althaea officinalis* Linn. 为锦葵科 (Malvaceae) 蜀葵属的多年生直立草本植物, 原产于欧洲和亚洲, 我国多为栽培品种, 收录于欧洲药典。作为欧洲传统药食两用植物, 药蜀葵已有至少 2000 年的应用历史, 其根、茎、叶、花和种子均可入药, 用于治疗口腔和咽部黏膜刺激、干咳、轻度胃炎、皮肤烧伤, 蚊虫咬伤、黏膜炎、溃疡、脓肿、便秘和腹泻<sup>[1]</sup>; 其茎叶可食用。此外, 因药蜀葵花色艳丽, 亦作为观赏性植物<sup>[2]</sup>。

迄今为止, 关于药蜀葵功效物质基础研究比较薄弱, 其主要药效物质不明确。此前, 仅从该植物中分离鉴定 46 个化合物<sup>[3]</sup>, 主要为黄酮、酚酸、多糖、香豆素、甾体和氨基酸类成分<sup>[4]</sup>。现代药理实验表明药蜀葵提取物具有镇咳、抗炎、抗氧化<sup>[5]</sup>等作用, 但研究对象主要为其提取物, 对于单体化合物的药理活性研究相对不足。目前, 药蜀葵资源量较大, 但尚未得到充分的开发和利用。

本课题组前期研究发现, 药蜀葵茎叶甲醇浸提物醋酸乙酯萃取部位对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和 5-脂氧合酶具有较好的体外抑制活性<sup>[6]</sup>。基于此, 本研究拟通过多种色谱分离技术对药蜀葵醋酸乙酯萃取部位的化学成分进行更加系统深入的研究, 并对获得的化合物进行体外酶抑制活性评价, 以期药蜀葵资源合理开发和充分的利用奠定科学基础。通过理化性质和波谱数据共鉴定了 24 个化合物, 分别为腺苷 (adenosine, 1)、4-羟基-2,6 二甲氧基苯基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 (leonurisode A, 2)、苜蓿基-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 (benzyl-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, 3)、赤藓

醇 (meso-erythritol, 4)、5-羟甲基-2-呋喃甲醛 (5-hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde, 5)、1-[5-(hydroxymethyl) furan-2-yl] ethenone (6)、黑麦草内酯 (loliolide, 7)、isolololide (8)、4-羟基苯甲醛 (4-hydroxybenzaldehyde, 9)、对羟基苯甲酸甲酯 (methyl 4-hydroxybenzoate, 10)、催吐萝芙木醇 (vomifoliol, 11)、(6*S*,7*Z*,9*R*)-roseoside (12)、二氢芥子醇 (dihydrosyringenin, 13)、3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propan-1-ol (14)、dihydrodehydrodiconifenyl alcohol (15)、齐墩果酸 3-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 (oleanolic acid 3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, 16)、紫云英苷 (astragalin, 17)、反式银椴苷 (*trans*-tiliroside, 18)、望春花黄酮醇苷 (biondnoid I, 19)、apigenin 7-*O*-(6''-*trans*-*p*-coumaroyl)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (20)、香叶木素 7-*O*- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖苷 (diosmetin 7-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside, 21)、田蓟苷 (tilianin, 22)、芒柄花素 7-葡萄糖苷 (formononetin 7-glucoside, 23)、acacetin 7-*O*-(6''-*p*-coumaroyl)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (24)。酶抑制结果表明, 部分化合物具有较好的体外抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (19、24) 和 5-脂氧合酶 (18、24) 活性。

## 1 仪器与材料

Varian Mercury plus-600 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 半制备型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); 半制备色谱柱 (YMC, 250 mm × 20 mm, 10  $\mu$ m, 日本 YMC 公司); EYELAN-1210 旋转蒸发器 (上海爱郎仪器有限公司); Milli-Q integral 制水机 (美国密理博公司); Multiskan GO 酶标仪 (美国

Thermo Scientific 公司); D-101 型大孔吸附树脂(天津允开树脂科技有限公司); MCI GEL 填料(日本三菱化学公司); HSGF<sub>254</sub> 硅胶板(烟台市化学工业研究所); Sephadex LH-20(瑞典 Pharmacia 生物技术有限公司); 柱色谱硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工有限公司); 色谱级甲醇、乙腈(云南新蓝景化学工业有限公司); 5-脂氧合酶(批号 N25GS169274, 5 万 U/mg, 来源于大豆, 上海源叶生物科技有限公司); 亚油酸(批号 BCBZ1990, 质量分数≥98.5%); 槲皮素(批号 C01J10Y91727, 质量分数≥98%, 上海源叶生物科技有限公司); α-葡萄糖苷酶(批号 M11GS141284, 33 U/mg, 来源于酵母, 上海源叶生物科技有限公司); 对硝基苯基-α-D-葡萄糖吡喃苷(批号 wkq20071504, 质量分数≥98%, 四川维克奇生物科技有限公司); 阿卡波糖(批号 RFS-A01411804026, 质量分数≥98%, 成都瑞芬思生物科技有限公司); 其他试剂均为分析纯(天津科密欧化学试剂有限公司)。

实验用药蜀葵收集于陕西省咸阳市永寿县监军镇陕西辉胜现代农业园区, 经陕西中医药大学许洪波副教授鉴定为锦葵科蜀葵属植物药蜀葵 *A. officinalis* L. 的干燥茎叶, 标本(20190007)保存于陕西中医药大学陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心。

## 2 提取与分离

干燥的药蜀葵茎叶 45 kg, 经甲醇室温浸渍提取 3 次, 减压回收甲醇, 将得到的干浸膏分散于水中, 依次用石油醚和醋酸乙酯萃取得到相关部位, 其中甲醇浸提物醋酸乙酯萃取部位浸膏 0.5 kg 过大孔吸附树脂柱, 依次用水及 30%、50%、70%和 100%甲醇梯度洗脱, 所得洗脱溶剂分别浓缩合并得 5 个组分(Fr. A~E)。组分 Fr. B (8.3 g) 经葡聚糖凝胶色谱甲醇体系洗脱, 合并相同流分后, 再经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水(24:76)等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **1** (4.3 mg,  $t_R=20.0$  min) 和 **2** (5.2 mg,  $t_R=22.3$  min)。组分 Fr. C (6.4 g) 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇体系(13:1、8:1、4:1、0:1)洗脱, 得到 4 个组分 Fr. C-1~C-4, Fr. C-1 (1.2 g) 经 MCI 色谱柱水-甲醇体系洗脱, 洗脱溶剂浓缩合并得到 4 个组分(Fr. C-1-1~C-1-4), Fr. C-1-1 (236.0 mg) 经葡聚糖凝胶色谱甲醇体系洗脱, 合并相同流分后, 再经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水(23:77)等度洗脱(3 mL/min),

得到化合物 **11** (21.2 mg,  $t_R=20.0$  min)。Fr. C-1-2 (85.0 mg) 经葡聚糖凝胶色谱甲醇体系洗脱, 得到化合物 **6** (2.6 mg) 和 **9** (3.7 mg)。Fr. C-1-3 (0.6 g) 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇体系(20:1~0:1)洗脱, 得到 3 个组分(Fr. C-1-3-1~Fr. C-1-3-3), Fr. C-1-3-1 (340.0 mg) 经葡聚糖凝胶色谱甲醇体系洗脱, 得到化合物 **5** (8.9 mg) 和 **13** (7.9 mg), 随后 Fr. C-1-3-1 剩余合并组分(225.0 mg), 经半制备高效液相色谱, 以乙腈-水(28:72)等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **7** (21.5 mg,  $t_R=17.5$  min)。Fr. C-1-4 (43.2 mg), 经半制备高效液相色谱仪, 以 26%乙腈等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **8** (20.4 mg,  $t_R=17.5$  min)。Fr. E (138.7 g) 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇体系(18:1、12:1、6:1、1:1 和 0:1)洗脱, 所得洗脱溶剂分别浓缩合并得 5 个组分(Fr. E1~E5), Fr. E3 (29.5 g) 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇体系(13:1、8:1、4:1、0:1)洗脱, 得到 Fr. E3-1~E3-4, 4 个组分, Fr. E3-2 (7.0 g) 经 MCI 色谱柱水-甲醇体系洗脱, 洗脱溶剂浓缩合并得到 4 个组分(Fr. E3-2-1~Fr. E3-2-4), Fr. E3-2-2 (1.1 g) 经葡聚糖凝胶色谱甲醇体系洗脱, 再经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水(26:74)等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **20** (6.2 mg,  $t_R=16.5$  min)、**21** (7.0 mg,  $t_R=17.0$  min); Fr. E3-2-3 (2.7 g) 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇体系(10:1~1:1)洗脱, 回收溶剂得到 5 个组分(Fr. E3-2-3-1~E3-2-3-5), Fr. E3-2-3-1 (78.9 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水(26:74)等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **16** (3.2 mg,  $t_R=16.0$  min)。Fr. E3-2-3-2 (600.0 mg) 经葡聚糖凝胶色谱(甲醇体系洗脱), 得到化合物 **17** (5.0 mg) 和 **18** (6.7 mg)。Fr. E3-2-3-3 (160 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水(23:77)等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **22** (1.5 mg,  $t_R=16.5$  min)、**23** (1.4 mg,  $t_R=16.0$  min)、**24** (3.0 mg,  $t_R=17.8$  min), Fr. E3-2-3-5 (206.5 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水(30:70)等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **19** (75.3 mg,  $t_R=15.5$  min)。Fr. E3-3 (10.2 g) 经 MCI 色谱柱水-甲醇体系洗脱, 洗脱溶剂浓缩合并得到 5 个组分(Fr. E3-3-1~Fr. E3-2-5), Fr. E3-3-1 (450.0 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水(28:72)等度洗脱(3 mL/min), 得到化合物 **10** (1.3 mg,  $t_R=17.0$  min)。Fr. E3-3-2 (1.2 g) 经葡聚糖凝

胶色谱甲醇体系洗脱, 经 TLC 检测合并相同流分, 浓缩得到 4 个组分 (Fr. E3-3-2-1~Fr. E3-3-2-4), Fr. E3-3-2-1 (320.0 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水 (30:70) 等度洗脱 (3 mL/min), 得到化合物 **12** (2.0 mg,  $t_R=18.0$  min), Fr. E3-3-2-3 (160.0 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水 (29:71) 等度洗脱 (3 mL/min), 得到化合物 **15** (1.6 mg,  $t_R=18.5$  min); Fr. E3-3-3 (95.0 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水 (29:71) 等度洗脱 (3 mL/min), 得到化合物 **14** (2.0 mg,  $t_R=18.3$  min); Fr. E3-3-5 (76.0 mg) 经半制备高效液相色谱仪, 以乙腈-水 (26:74) 等度洗脱 (3 mL/min), 得到化合物 **3** (2.0 mg,  $t_R=16.5$  min) 和 **4** (1.9 mg,  $t_R=19.0$  min)。

### 3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末,  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ 。 $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 8.35 (1H, s, H-8), 8.13 (1H, s, H-2), 7.35 (2H, s, -NH<sub>2</sub>), 5.88 (1H, d,  $J=6.2$  Hz, H-1'), 4.61 (1H, t,  $J=4.9$  Hz, H-2'), 4.14 (1H, m, H-3'), 3.96 (1H, q,  $J=3.4$  Hz, H-4'), 3.67 (1H, dd,  $J=12.2, 3.7$  Hz, H-5'a), 3.55 (1H, dd,  $J=12.2, 3.7$  Hz, H-5'b);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 152.4 (C-2), 149.1 (C-4), 119.4 (C-5), 156.2 (C-6), 139.9 (C-8), 87.9 (C-1'), 73.4 (C-2'), 70.7 (C-3'), 85.9 (C-4'), 61.7 (C-5')。以上数据与文献报道一致<sup>[7]</sup>, 故鉴定化合物 **1** 为腺苷。

化合物 **2**: 白色粉末,  $C_{14}H_{20}O_9$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.13 (2H, s, H-2, 6), 4.66 (1H, d,  $J=7.5$  Hz, H-1'), 3.79 (6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.78 (1H, dd,  $J=11.7, 2.5$  Hz, H-6'a), 3.67 (1H, dd,  $J=11.7, 5.2$  Hz, H-6'b), 3.33~3.45 (4H, m, H-2'~5');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 129.6 (C-1), 94.5 (C-2, 6), 154.8 (C-3, 5), 129.6 (C-4), 106.2 (C-1'), 75.7 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.3 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.6 (C-6'), 56.8 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[8]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为 4-羟基-2,6-二甲氧基苯基- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **3**: 白色粉末,  $C_{13}H_{18}O_6$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.42 (2H, m, H-4, 8), 7.32 (2H, m, H-5, 7), 7.27 (1H, m, H-6), 4.93 (1H, d,  $J=11.8$  Hz, Ha-2), 4.67 (1H, d,  $J=11.8$  Hz, H-2b), 4.35 (1H, d,  $J=7.8$  Hz, H-1'), 3.89 (1H, dd,  $J=11.9, 2.2$  Hz, H-6'a), 3.68 (1H, dd,  $J=11.9, 5.8$  Hz, H-6'b), 3.20~3.45 (4H, m, H-2'~5');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )

$\delta$ : 71.7 (C-2), 139.1 (C-3), 129.2 (C-4, 8), 129.3 (C-5, 7), 128.7 (C-6), 103.3 (C-1'), 75.2 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[9]</sup>, 故鉴定化合物 **3** 为苜蓿基- $O$ - $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **4**: 白色粉末,  $C_4H_{10}O_4$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 3.65 (2H, m, H-2, 3), 3.58 (2H, dd,  $J=11.2, 4.9$  Hz, H-2a, 3a), 3.51 (2H, dd,  $J=11.2, 6.0$  Hz, H-2b, 3b);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 73.9 (C-2, 3), 64.4 (C-1, 4)。以上数据与文献报道一致<sup>[10]</sup>, 故鉴定化合物 **4** 为赤藓醇。

化合物 **5**: 黄色油状物,  $C_6H_6O_3$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 9.54 (1H, s, CHO), 7.39 (1H, d,  $J=3.5$  Hz, H-3), 6.59 (1H, d,  $J=3.5$  Hz, H-4), 4.63 (2H, s, CH<sub>2</sub>OH);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 153.9 (C-2), 124.4 (C-3), 110.9 (C-4), 163.2 (C-5), 179.4 (CHO), 57.6 (CH<sub>2</sub>OH)。以上数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 **5** 为 5-羟甲基-2-呋喃甲醛。

化合物 **6**: 黄色油状物,  $C_7H_8O_3$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.31 (1H, d,  $J=3.5$  Hz, H-3), 6.52 (1H, d,  $J=3.5$  Hz, H-4), 4.59 (2H, s, CH<sub>2</sub>OH), 2.45 (3H, s, CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 188.69 (CO), 161.6 (C-2), 153.3 (C-5), 120.6 (C-3), 110.7 (C-4), 57.6 (CH<sub>2</sub>OH), 25.8 (CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 故鉴定化合物 **6** 为 1-[5-(hydroxymethyl) furan-2-yl] ethenone。

化合物 **7**: 无色油状物,  $C_{11}H_{16}O_3$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 5.76 (1H, s, H-7), 4.23 (1H, m, H-3), 2.00~2.40 (2H, d,  $J=14.0$  Hz, H-4 $\alpha$ , 4 $\beta$ ), 1.76 (3H, s, H-11), 1.53~1.75 (2H, dd,  $J=14.4, 3.0$  Hz, H-2 $\alpha$ , 2 $\beta$ ), 1.48 (3H, s, H-10), 1.27 (3H, s, H-9);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 37.2 (C-1), 48.0 (C-2), 67.2 (C-3), 46.4 (C-4), 88.9 (C-5), 185.7 (C-6), 113.3 (C-7), 174.4 (C-8), 27.4 (C-9), 27.0 (C-10), 31.0 (C-11)。以上数据与文献报道一致<sup>[13]</sup>, 故鉴定化合物 **7** 为黑麦草内酯。

化合物 **8**: 无色油状物,  $C_{11}H_{16}O_3$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3COCD_3$ )  $\delta$ : 5.71 (1H, s, H-7), 4.13 (1H, m, H-3), 2.88 (1H, m, H-4 $\beta$ ), 2.44 (1H, d,  $J=11.7$  Hz, H-2 $\beta$ ), 2.05 (1H, m, H-4 $\alpha$ ), 2.00 (1H, d,  $J=12.8$  Hz, H-2 $\alpha$ ), 1.55, (3H, s, H-11), 1.30 (3H, s, H-9), 1.28 (3H, s, H-10);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3COCD_3$ )  $\delta$ : 35.7 (C-1), 50.8 (C-2), 64.7 (C-3), 49.1 (C-4), 87.0

(C-5), 182.1 (C-6), 113.6 (C-7), 171.5 (C-8), 26.0 (C-9), 25.4 (C-10), 30.3 (C-11)。以上数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 故鉴定化合物 **8** 为 isololiolide。

化合物 **9**: 白色粉末,  $C_7H_6O_2$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 9.76 (1H, s, CHO), 7.78 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-3, 5), 6.91 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-2, 6);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 165.3 (C-1), 116.9 (C-2, 6), 133.4 (C-3, 5), 130.3 (C-4), 192.8 (-CHO)。以上数据与文献报道一致<sup>[15]</sup>, 故鉴定化合物 **9** 为 4-羟基苯甲醛。

化合物 **10**: 白色粉末,  $C_8H_8O_3$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz, DMSO)  $\delta$ : 7.80 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3, 5), 6.83 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-2, 6), 4.05 (3H, s, H-8);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 159.3 (C-1), 115.4 (C-2, 6), 131.4 (C-3, 5), 120.0 (C-4), 165.3 (C-7), 51.6 (C-8)。以上数据与文献报道一致<sup>[16]</sup>, 故鉴定化合物 **10** 为对羟基苯甲酸甲酯。

化合物 **11**: 无色油状物,  $C_{13}H_{20}O_3$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 5.88 (1H, s, H-2), 5.80 (2H, m, H-7, 8), 4.33 (1H, m, H-9), 2.49 (1H, d,  $J = 17.1$  Hz, H-6a), 2.17 (1H, d,  $J = 17.1$  Hz, H-6b), 1.92 (3H, s, 3-Me), 1.25 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-10), 1.05 (3H, s, H-5-Me<sub>a</sub>), 1.02 (3H, s, H-5-Me<sub>b</sub>);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 201.2 (C-1), 127.1 (C-2), 167.4 (C-3), 79.9 (C-4), 42.4 (C-5), 49.9 (C-6), 130.0 (C-7), 127.1 (C-8), 68.6 (C-9), 24.5 (C-10), 19.6 (3-Me), 24.8 (5-Me<sub>a</sub>), 23.8 (5-Me<sub>b</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[17]</sup>, 故鉴定化合物 **11** 为催吐萝芙木醇。

化合物 **12**: 无色油状物,  $C_{19}H_{13}O_8$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 5.87 (1H, s, H-2), 5.86 (1H, m, H-7), 5.85 (1H, m, H-8), 4.33 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'), 4.29 (1H, m, H-9), 3.86 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, Ha-6'), 3.84 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-6'b), 3.22~3.47 (4H, m, H-2'~5'), 2.52 (1H, d,  $J = 16.9$  Hz, H-4a), 2.14 (1H, d,  $J = 16.9$  Hz, H-4b), 1.98 (3H, s, H-3-Me), 1.29 (3H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-10), 1.03 (6H, s, H-5-Me);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 167.2 (C-1), 127.12 (C-2), 201.2 (C-3), 50.7 (C-4), 42.4 (C-5), 80.0 (C-6), 131.5 (C-7), 135.3 (C-8), 78.1 (C-9), 21.2 (C-10), 24.7 (C-11), 23.4 (C-12), 21.1 (C-13), 102.7 (C-1'), 75.3 (C-2'), 77.3 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.1 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[18]</sup>, 故鉴定化合物 **12** 为 (6*S*,7*Z*,9*R*)-roseoside。

化合物 **13**: 无色油状物,  $C_{11}H_{16}O_4$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 6.42 (2H, s, H-2, 6), 3.87 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.68 (2H, t,  $J = 6.1$  Hz, H-9), 2.64 (2H, t,  $J = 7.7$  Hz, H-7), 1.88 (2H, m, H-8);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ : 133.1 (C-1), 105.1 (C-2, 6), 147.1 (C-3, 5), 132.9 (C-4), 32.5 (C-7), 34.6 (C-8), 62.4 (C-9), 56.4 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[19]</sup>, 故鉴定化合物 **13** 为二氢芥子醇。

化合物 **14**: 无色油状物,  $C_{12}H_{18}O_4$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.44 (2H, s, H-2, 6), 3.72 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.71 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.49 (2H, t,  $J = 6.2$  Hz, H-9), 2.77 (2H, m, H-7), 1.82 (2H, m, H-8);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 137.1 (C-1), 105.5 (C-2, 6), 153.4 (C-3, 5), 136.5 (C-4), 32.3 (C-7), 33.5 (C-8), 62.4 (C-9), 60.8 (4-OCH<sub>3</sub>), 56.1 (3, 5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[20]</sup>, 故鉴定化合物 **14** 为 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propan-1-ol。

化合物 **15**: 白色粉末,  $C_{20}H_{24}O_6$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.94 (1H, d,  $J = 1.9$  Hz, H-2), 6.82 (1H, dd,  $J = 8.2, 2.0$  Hz, H-6), 6.76 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5), 6.72 (2H, s, H-2', 6'), 5.49 (1H, d,  $J = 6.3$  Hz, H-7), 3.85 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.82 (1H, d,  $J = 5.9$  Hz, H-9a), 3.81 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.64 (1H, m, H-8), 3.56 (2H, t,  $J = 6.5$  Hz, H-9'), 3.47 (1H, d,  $J = 5.9$  Hz, H-9b), 2.62 (2H, t,  $J = 7.7$  Hz, H-7'), 1.82 (2H, m, H-8');  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 136.9 (C-1), 110.5 (C-2), 149.1 (C-3), 147.5 (C-4), 114.1 (C-5), 119.7 (C-6), 88.0 (C-7), 55.5 (C-8), 65.0 (C-9), 134.8 (C-1'), 116.1 (C-2'), 145.2 (C-3'), 147.5 (C-4'), 129.9 (C-5'), 117.9 (C-6'), 33.1 (C-7'), 32.9 (C-8'), 62.2 (C-9'), 56.7 (-OCH<sub>3</sub>-3'), 56.3 (-OCH<sub>3</sub>-3)。以上数据与文献报道一致<sup>[21]</sup>, 故鉴定化合物 **15** 为 dihydrodehydrodiconifenyl alcohol。

化合物 **16**: 白色粉末,  $C_{36}H_{58}O_8$ ,  $^1H$ -NMR (600 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 5.27 (1H, t,  $J = 3.3$  Hz, H-12), 5.09 (1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1'), 4.13 (1H, dd,  $J = 11.6, 6.3$  Hz, H-6'a), 3.89 (1H, dd,  $J = 11.6, 6.3$  Hz, H-6'b), 3.32~3.45 (4H, m, H-2'~5'), 3.23 (1H, dd,  $J = 12.0, 4.5$  Hz, H-3), 3.16 (1H, dd,  $J = 14.3, 3.8$  Hz, H-18), 1.27 (3H, s, 23-CH<sub>3</sub>), 1.19 (3H, s, 27-CH<sub>3</sub>), 1.04 (3H, s, 24-CH<sub>3</sub>), 0.94 (3H, s, 26-CH<sub>3</sub>), 0.90 (3H, s, 29-CH<sub>3</sub>), 0.83 (3H, s, 25-CH<sub>3</sub>), 0.77 (3H, s, 30-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (150 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 40.6 (C-1), 25.9

(C-2), 88.8 (C-3), 41.5 (C-4), 51.8 (C-5), 19.1 (C-6), 33.4 (C-7), 42.1 (C-8), 48.8 (C-9), 39.0 (C-10), 24.6 (C-11), 123.3 (C-12), 145.6 (C-13), 44.1 (C-14), 29.4 (C-15), 23.7 (C-16), 48.2 (C-17), 43.0 (C-18), 47.9 (C-19), 30.8 (C-20), 36.9 (C-21), 33.2 (C-22), 28.9 (C-23), 17.5 (C-24), 14.4 (C-25), 17.9 (C-26), 26.5 (C-27), 180.0 (C-28), 33.1 (C-29), 24.1 (C-30), 105.8 (C-1'), 71.7 (C-2'), 78.2 (C-3'), 69.7 (C-4'), 78.0 (C-5'), 66.7 (C-6')。以上数据与文献报道一致<sup>[22]</sup>, 故鉴定化合物 **16** 为齐墩果酸 3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **17**: 黄色油状物, C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>11</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.03 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-3', 5'), 6.26 (1H, s, H-8), 6.09 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 5.14 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 3.67 (1H, dd, *J* = 11.9, 2.4 Hz, H-6'a), 3.53 (1H, dd, *J* = 11.9, 5.4 Hz, H-6'b), 3.32~3.45 (4H, m, H-2''~5''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 158.9 (C-2), 135.3 (C-3), 178.9 (C-4), 162.8 (C-5), 101.6 (C-6), 171.3 (C-7), 96.00 (C-8), 158.4 (C-9), 104.6 (C-10), 122.8 (C-1'), 132.2 (C-2', 6'), 116.1 (C-3', 5'), 161.7 (C-4'), 104.2 (C-1''), 75.7 (C-2''), 78.1 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.4 (C-5''), 62.6 (C-6'')。以上数据与文献报道一致<sup>[23]</sup>, 故鉴定化合物 **17** 为紫云英苷。

化合物 **18**: 黄色粉末, C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.07 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 7.64 (H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7'''), 7.45 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2''', 6'''), 6.91 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, 3', 5'), 6.79 (2H, d, *J* = 6.4 Hz, H-3''', 5'''), 6.40 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 6.34 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8'''), 6.20 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 5.38 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 3.71 (1H, dd, *J* = 11.7, 6.6 Hz, H-6'a), 3.56 (1H, dd, *J* = 11.7, 6.6 Hz, H-6'b), 3.31~3.72 (4H, m, H-2''~5''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 158.5 (C-2), 135.3 (C-3), 179.4 (C-4), 163.1 (C-5), 99.9 (C-6), 159.1 (C-7), 94.8 (C-8), 166.1 (C-9), 103.9 (C-10), 122.8 (C-1'), 131.3 (C-2', 6'), 116.8 (C-3', 5'), 161.4 (C-4'), 105.7 (C-1''), 75.8 (C-2''), 75.9 (C-3''), 72.2 (C-4''), 76.6 (C-5''), 62.4 (C-6''), 127.1 (C-1'''), 132.3 (C-2''', 6'''), 116.2 (C-3''', 5'''), 161.6 (C-4'''), 147.3 (C-7'''), 114.7 (C-8'''), 168.5 (C-9''')。以上数据与文献报道一致<sup>[24]</sup>, 故鉴定化合物 **18** 为反式银锻苷。

化合物 **19**: 黄色粉末, C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>13</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.99 (2H, m, H-2', 6'), 7.40 (1H, d,

*J* = 15.9 Hz, H-7'''), 7.32 (2H, m, H-2''', 6'''), 6.81 (4H, m, H-3''', 5''', 3', 5'), 6.31 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 6.13 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.08 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8'''), 5.24 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 4.29 (1H, dd, *J* = 11.8, 2.3 Hz, H-6'a), 4.19 (1H, dd, *J* = 11.8, 6.7 Hz, H-6'b), 3.31~3.53 (4H, m, H-2''~5''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 158.5 (C-2), 135.2 (C-3), 179.4 (C-4), 163.0 (C-5), 100.1 (C-6), 166.4 (C-7), 94.9 (C-8), 161.5 (C-9), 104.0 (C-10), 122.7 (C-1'), 131.2 (C-2', 6'), 116.8 (C-3', 5'), 159.3 (C-4'), 105.5 (C-1''), 75.7 (C-2''), 75.8 (C-3''), 71.7 (C-4''), 78.0 (C-5''), 64.3 (C-6''), 127.1 (C-1'''), 132.2 (C-2''', 6'''), 116.0 (C-3''', 5'''), 161.2 (C-4'''), 145.6 (C-7'''), 114.7 (C-8'''), 168.8 (C-9''')。以上数据与文献报道一致<sup>[25]</sup>, 故鉴定化合物 **19** 为望春花黄酮醇苷。

化合物 **20**: 黄色粉末, C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.98 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-2', 6'), 7.41 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7'''), 7.32 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2''', 6'''), 6.79 (4H, d, *J* = 8.1 Hz, H-3', 5', 3''', 5'''), 6.78 (1H, s, H-3), 6.23 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.09 (1H, d, *J* = 16.1 Hz, H-8'''), 6.07 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.16 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1'), 4.29 (1H, dd, *J* = 11.7, 6.6 Hz, H-6'a), 4.16 (1H, dd, *J* = 11.8, 6.6 Hz, H-6'b), 3.32~3.48 (4H, m, H-2''~5''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 161.5 (C-2), 104.4 (C-3), 178.9 (C-4), 161.4 (C-5), 101.4 (C-6), 162.8 (C-7), 95.8 (C-8), 158.0 (C-9), 104.5 (C-10), 122.8 (C-1'), 131.2 (C-2', 6'), 116.9 (C-3', 5'), 160.2 (C-4'), 107.0 (C-1''), 75.1 (C-2''), 78.1 (C-3''), 71.1 (C-4''), 75.8 (C-5''), 64.3 (C-6''), 127.0 (C-1'''), 132.1 (C-2''', 6'''), 116.0 (C-3''', 5'''), 158.8 (C-4'''), 146.6 (C-7'''), 114.7 (C-8'''), 168.8 (C-9''')。以上数据与文献报道一致<sup>[26]</sup>, 故鉴定化合物 **20** 为 apigenin 7-O-(6''-trans-p-coumaroyl-β-D-glucopyranoside)。

化合物 **21**: 黄色粉末, C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 12.70 (1H, s, 5-OH), 7.69 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.3 Hz, H-6'), 7.58 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-2'), 7.05 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5'), 6.51 (1H, s, H-3), 6.46 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-8), 5.85 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 4.41 (2H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1'), 3.84 (1H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.69 (2H, d, *J* = 2.2 Hz, H-6''), 3.22~3.34 (4H, m, 2''~5''); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 162.4 (C-2), 102.9 (C-3), 180.7 (C-4), 158.9 (C-5),

99.8 (C-6), 166.7 (C-7), 94.6 (C-8), 158.0 (C-9), 108.6 (C-10), 124.2 (C-1'), 113.5 (C-2'), 147.1 (C-3'), 149.8 (C-4'), 112.5 (C-5'), 119.5 (C-6'), 101.5 (C-1''), 74.7 (C-2''), 77.1 (C-3''), 69.3 (C-4''), 77.3 (C-5''), 60.8 (C-6''), 56.1 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[27]</sup>, 故鉴定化合物 **21** 为香叶木素 7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **22**: 黄色粉末, C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 8.04 (2H, dd, *J* = 8.5, 3.5 Hz, H-2', 6'), 6.97 (2H, dd, *J* = 8.5, 2.1 Hz, H-3', 5'), 6.86 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-8), 6.72 (1H, s, H-3), 6.39 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-6), 5.26 (1H, dd, *J* = 7.5, 2.6 Hz, H-1''), 4.59 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.03 (1H, dd, *J* = 11.8, 6.7 Hz, H-6''a), 3.97 (1H, dd, *J* = 11.8, 6.7 Hz, H-6''b), 3.31~3.45 (4H, m, H-2'~5'); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 163.1 (C-2), 103.9 (C-3), 179.4 (C-4), 158.5 (C-5), 100.2 (C-6), 166.5 (C-7), 94.9 (C-8), 159.2 (C-9), 105.5 (C-10), 122.7 (C-1'), 116.1 (C-2', 6'), 129.0 (C-3', 5'), 161.6 (C-4'), 103.8 (C-1''), 75.7 (C-2''), 75.8 (C-3''), 71.5 (C-4''), 77.9 (C-5''), 64.5 (C-6''), 56.5 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道一致<sup>[28]</sup>, 故鉴定化合物 **22** 为田蓟苷。

化合物 **23**: 黄色粉末, C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.63 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5), 7.61 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.86 (1H, s, H-3), 6.79 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.73 (1H, m, H-6), 6.69 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-8), 5.13 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1''), 3.66 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.60 (1H, dd, *J* = 11.9, 2.5 Hz, H-6''a), 3.48 (1H, dd, *J* = 11.9, 5.4 Hz, H-6''b), 3.35~3.43 (4H, m, H-2'~5'); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 163.5 (C-2), 104.6 (C-3), 179.3 (C-4), 126.3 (C-5), 117.1 (C-6), 161.5 (C-7), 100.1 (C-8), 156.1 (C-9), 113.1 (C-10), 122.7 (C-1'), 132.5 (C-2', 5'), 115.9 (C-3', 6'), 160.6 (C-4'), 56.2 (C-OCH<sub>3</sub>), 111.9 (C-1''), 71.2 (C-2''), 78.2 (C-3''), 69.7 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.5 (C-6'')。以上数据与文献报道一致<sup>[29]</sup>, 故鉴定化合物 **23** 为芒柄花素 7-葡萄糖苷。

化合物 **24**: 黄色粉末, C<sub>31</sub>H<sub>28</sub>O<sub>12</sub>, <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.50 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 7.35 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7'''), 7.21 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2''', 6'''), 6.78 (1H, s, H-3), 6.74 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.67 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3''', 5'''), 6.64 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6),

6.05 (1H, d, *J* = 16.1 Hz, H-8'''), 5.22 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''), 4.33 (1H, dd, *J* = 11.8, 2.3 Hz, H-6''a), 4.22 (1H, dd, *J* = 11.8, 6.7 Hz, H-6''b), 3.60 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>), 3.35~3.47 (4H, m, H-2'~5'); <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 161.4 (C-2), 103.8 (C-3), 179.6 (C-4), 161.2 (C-5), 99.8 (C-6), 163.7 (C-7), 94.2 (C-8), 159.4 (C-9), 106.1 (C-10), 122.6 (C-1'), 131.2 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 160.9 (C-4'), 56.2 (4'-OCH<sub>3</sub>), 111.8 (C-1''), 75.7 (C-2''), 78.0 (C-3''), 71.7 (C-4''), 75.9 (C-5''), 64.2 (C-6''), 127.1 (C-1'''), 132.4 (C-2''', 6'''), 116.8 (C-3''', 5'''), 155.9 (C-4'''), 148.66 (C-7'''), 120.6 (C-8'''), 168.7 (C-9''')。以上数据与文献报道一致<sup>[30]</sup>, 故鉴定化合物 **24** 为 acacetin 7-*O*-(6''-*p*-coumaroyl)-β-*D*-glucopyranoside。

## 4 活性筛选

### 4.1 α-葡萄糖苷酶体外抑制活性测试

化合物对 α-葡萄糖苷酶的体外抑制活性测试参考本课题组前期建立的测试方法<sup>[31]</sup>进行测定。采用 100 mmol/L pH 6.9 的磷酸盐缓冲液 (PBS) 精确配制 0.1 U/mL 的 α-葡萄糖苷酶溶液和 5 mmol/L 的对硝基苯基-α-*D*-吡喃葡萄糖苷 (*p*-nitrophenyl-α-*D*-glucopyranoside, pNPG) 溶液备用。吸取 50 μL 样品溶液于 96 孔板中, 加入 100 μL 酶液, 混合均匀后于室温下孵育 10 min, 加入 50 μL pNPG 溶液启动反应, 分别在反应 0、5 min 于酶标仪 405 nm 测吸光度 (*A*), 以阿卡波糖为阳性对照, 设定样品组和空白组 (PBS 代替样品), 记录 2 次 *A* 的差值, 平行操作 3 次, 按公式计算抑制率。

$$\text{抑制率} = (\Delta A_c - \Delta A_s) / \Delta A_c$$

$\Delta A_c$  是空白组在 0~5 min 内的 *A* 差值,  $\Delta A_s$  是样品组在 0~5 min 内的 *A* 差值

### 4.2 5-脂氧合酶体外抑制活性测试

化合物对 5-脂氧合酶的体外抑制活性测试参考本课题组前期建立的测试方法<sup>[6]</sup>进行测定。简述如下, 配制底物溶液: 配制浓度为 200 mmol/L pH 9.0 的 PBS 缓冲液, 精确吸取 50 μL 聚山梨酯 20 分散在 PBS 缓冲溶液中, 边摇动边加亚油酸 50 μL, 混合均匀后加入 1 mol/L 的氢氧化钠, 边加边摇动, 直到整个体系澄清, pH 调至 9.0, 加 PBS 定容至 100 mL; 用 PBS 配制 0.2 U/mL 的 5-脂氧合酶溶液。精确吸取 50 μL 样品溶液于 96 孔板中, 加入 100 μL 的底物溶液, 轻轻摇动混匀, 室温孵育 5 min, 快速加入 100 μL 酶溶液, 分别在反应 0、5 min 于酶

标仪 234 nm 测 A 值, 以槲皮素为阳性对照, 设定样品组和空白组 (PBS 代替样品), 记录 2 次 A 的差值, 平行操作 3 次, 按“4.1”项下公式计算抑制率。

### 4.3 实验结果

化合物在 200、100 μmol/L 时对 α-葡萄糖苷酶和 5-脂氧合酶的体外抑制活性测试结果见表 1。在 23 个测试的化合物中 (化合物 4 的量较少, 未做活性测定), 相较于其他类型的化合物, 黄酮类化合物表现出较好的抑制活性, 如化合物 18、19、23 和 24 在 200 μmol/L 下对 α-葡萄糖苷酶的抑制率分别为 50.66%、95.15%、48.90% 和 75.70%; 化合物 18、21 和 24 在 200 μmol/L 下对 5-脂氧合酶的抑制率分别为 84.87%、50.49% 和 83.96%。对活性较好的化合物 18、19 和 24 做进一步活性研究, 并通过 GraphPad Prism 8.0 计算其半数抑制浓度 (median

inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 值, 实验结果见图 1。

化合物 18 对 α-葡萄糖苷酶的 IC<sub>50</sub> 值为 (12.2 ± 1.3) μmol/L, 对 5-脂氧合酶的 IC<sub>50</sub> 值为 (34.76 ± 4.3) μmol/L; 化合物 19 对 α-葡萄糖苷酶的 IC<sub>50</sub> 值为 (2.8 ± 0.6) μmol/L; 化合物 24 对 α-葡萄糖苷酶的 IC<sub>50</sub> 值为 (31.1 ± 3.9) μmol/L, 对 5-脂氧合酶的 IC<sub>50</sub> 值为 (25.37 ± 2.4) μmol/L。α-葡萄糖苷酶的阳性对照阿卡波糖的 IC<sub>50</sub> 值为 (0.16 ± 0.0) μmol/L, 5-脂氧合酶的阳性对照槲皮素的 IC<sub>50</sub> 值为 (19.8 ± 0.3) μmol/L。

### 5 讨论

药蜀葵作为传统的药食两用植物, 具有广泛的药理作用和潜在的经济价值。药蜀葵主要含有黄酮类、多糖类和酚酸类化合物, 但从中分离鉴定出的化合物并不多, 且国内对其研究相对较少; 为了充分开发和利用药蜀葵资源, 在本课题组之前的研究

表 1 23 个化合物对 α-糖苷酶和 5-脂氧合酶的体外抑制活性结果

Table 1 Inhibitory activities of 23 compounds against α-glucosidase and 5-lipoxygenase *in vitro*

化合物	α-葡萄糖苷酶抑制率/%		5-脂氧合酶抑制率/%	
	200 μmol/L	100 μmol/L	200 μmol/L	100 μmol/L
1	-	-	18.67	14.78
2	-	-	32.39	25.67
3	11.30	6.86	6.53	-
5	-	-	45.76	25.32
6	-	-	29.49	5.66
7	5.38	12.52	1.70	-
8	8.78	14.16	33.99	-
9	21.51	15.37	37.22	26.84
10	-	-	42.41	12.57
11	18.33	15.11	19.44	12.34
12	9.90	3.90	-	-
13	2.53	5.59	-	-
14	12.76	9.70	-	-
15	40.60	31.80	44.11	25.72
16	49.22	39.57	59.42	42.08
17	30.69	17.45	22.81	-
18	50.66	70.44	84.87	73.90
19	95.15	85.79	42.99	37.96
20	38.47	64.24	52.96	26.17
21	32.29	43.54	50.49	55.42
22	41.68	35.15	45.51	41.31
23	48.90	42.43	62.22	33.58
24	75.70	63.44	83.96	64.64
阿卡波糖	91.35	89.64	-	-
槲皮素	-	-	96.38	95.41



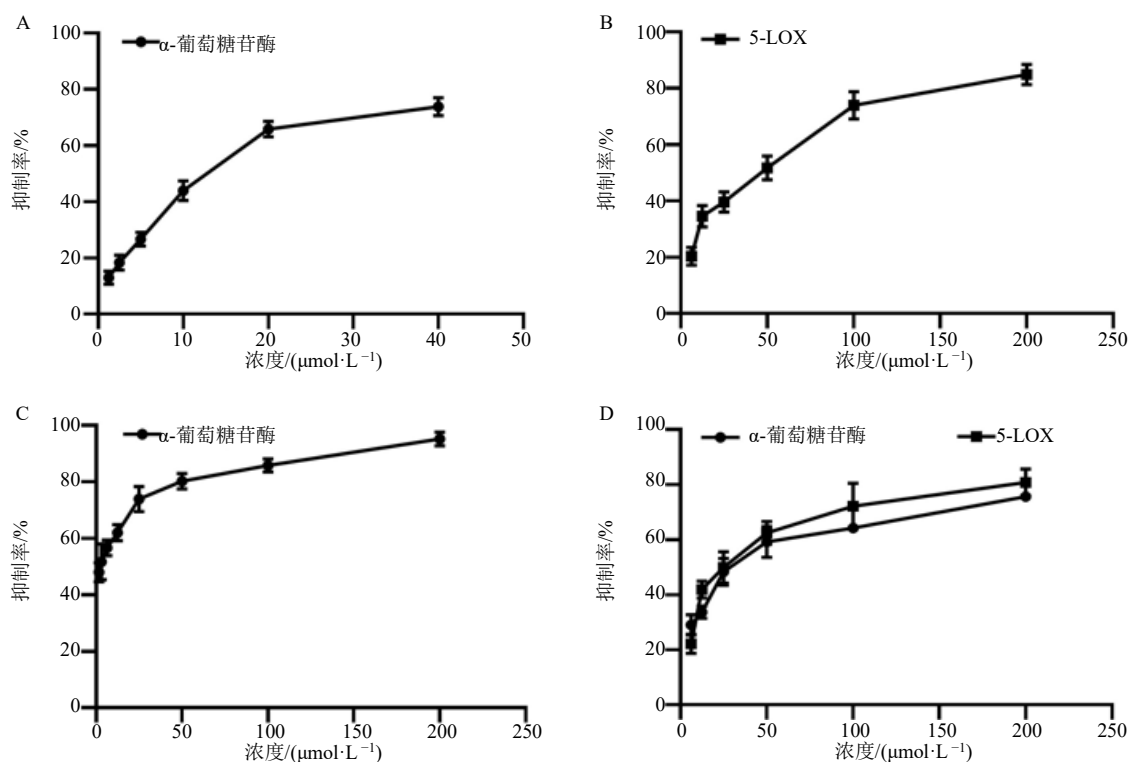


图1 化合物18(A、B)、19(C)和24(D)对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和5-脂氧合酶的体外抑制活性测试

Fig. 1 Activity tests *in vitro* of compounds 18 (A, B), 19 (C) and 24 (D) towards  $\alpha$ -glucosidase and 5-lipoxygenase

中,通过活性追踪方式确定了甲醇浸提物醋酸乙酯萃取部位为其抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和5-脂氧合酶的活性部位。本研究通过系统分离纯化,从药蜀葵茎叶中鉴定了24个化合物,其中有23个化合物(除化合物17)为首次从药蜀葵中被发现;研究结果丰富了药蜀葵中化合物类型。

$\alpha$ -葡萄糖苷酶是降低餐后血糖的有效分子靶标,有研究报道多酚类化合物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有良好的抑制活性<sup>[32]</sup>,而多羟基取代的类黄酮是有效的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂,在A环的5和7或8位、B环的3和4位和C环3位的羟基化,以及C环2、3位的双键对黄酮类化合物的抑制活性至关重要<sup>[33]</sup>。本课题组之前发现从药蜀葵茎叶中富集纯化得到的总黄酮具有潜在的体外抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性<sup>[31]</sup>。在本研究开展活性测试的化合物中,相较于阳性对照阿卡波糖,黄酮类化合物均表现出一定的抑制活性,其中化合物18、19和24表现出较好的活性。此前,已有研究报道化合物18是1个潜在的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂<sup>[34]</sup>,化合物19由于其C环3位被羟基化,其活性最好。

5-脂氧合酶是从不饱和脂肪酸合成前列腺素和

花生酸的关键酶和介质,其参与各种炎症和过敏性疾病,如类风湿性关节炎等<sup>[35-36]</sup>。因此,5-脂氧合酶对于调节和消除炎症过程至关重要。本研究在对5-脂氧合酶的体外活性测试中,发现黄酮类化合物均表现出一定程度的抑制活性,其中化合物18和24表现活性较好,表明其具有潜在的抗炎作用。

本研究初步明确了药蜀葵降血糖及抗炎的可能物质基础,为药蜀葵茎叶的开发提供了科学参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Pakrokh Ghavi P. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharide from the roots of *Althaea officinalis* [J]. *J Food Process Preserv*, 2015, 39(6): 2107-2118.
- [2] Fahamiya N, Shiffa M, Aslam M, et al. Unani perspective of khatmi (*Althaea officinalis*) [J]. *J Pharmacogn Phytochem*, 2016, 5(6): 357-360.
- [3] Xue T T, Xu H B, Tang Z S, et al. Progress in chemical compositions and pharmacological activities of *Althaea officinalis*[J]. *Med Res*, 2021, 5(2): 210002.
- [4] Gudej J. Flavonoid compounds of *Althaea officinalis*

- leaves. 1. Glucoside esters, monoglucosides [J]. *Acta Pol Pharm*, 1985, 42(2): 192-198.
- [5] Ali Shah S M, Akhtar N, Akram M, *et al.* Pharmacological activity of *Althaea officinalis* L [J]. *J Med Plant Res*, 2011, 5(24): 5662-5666.
- [6] Xue T T, Yang Y G, Tang Z S, *et al.* Evaluation of antioxidant, enzyme inhibition, nitric oxide production inhibitory activities and chemical profiles of the active extracts from the medicinal and edible plant: *Althaea officinalis* [J]. *Food Res Int*, 2022, 156: 111166.
- [7] Yu Z Y, Han C Y, Yu B, *et al.* Taxonomic characterization, and secondary metabolite analysis of *Streptomyces triticiradicis* sp. nov.: A novel actinomycete with antifungal activity [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(1): 77.
- [8] Wang X G, Li Q, Jiang S R, *et al.* Chemical composition and insecticidal property of *Myrsine stolonifera* (Koidz.) Walker (Family: Myrsinaceae) On *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) [J]. *Acta Trop*, 2017, 170: 70-78.
- [9] Jin Q H, Lee C, Lee J W, *et al.* Chemical constituents from the fruits of *Prunus mume* [J]. *Nat Prod Sci*, 2012, 18(3): 200-203.
- [10] Shimura Y, Oh K, Kon M, *et al.* Enzymatic synthesis of novel branched sugar alcohols mediated by the transglycosylation reaction of pullulan-hydrolyzing amylase II (TVA II) cloned from *Thermoactinomyces vulgaris* R-47 [J]. *Carbohydr Res*, 2011, 346(13): 1842-1847.
- [11] Shen Y M, Mu Q Z. New furans from *Cirsium chlorolepis* [J]. *Planta Med*, 1990, 56(5): 472-474.
- [12] Nikolov P Y, Yaylayan V A. Thermal decomposition of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) and its further transformations in the presence of glycine [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(18): 10104-10113.
- [13] Willuhn G, Westhaus R G. Loliolide (calendin) from *Calendula officinalis* [J]. *Planta Med*, 1987, 53(3): 304.
- [14] 徐秀丽, 印丽媛, 宋福行, 等. 海洋褐藻叉开网翼藻中的单萜成分研究 [J]. *海洋科学*, 2012, 36(10): 81-84.
- [15] Shubina L K, Makar'eva T N, Denisenko V A, *et al.* 4-hydroxybenzaldehyde from the baikal sponge *Lubomirskia baicalensis* [J]. *Chem Nat Compd*, 2005, 41(1): 93-94.
- [16] 林玉萍, 张旭, 虎春艳, 等. 核桃壳的化学成分 [J]. *食品工业*, 2020, 41(8): 300-303.
- [17] Siddiqui B S, Kardar M N, Ali S T, *et al.* Two new and a known compound from *Lawsonia inermis* [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2003, 86(6): 2164-2169.
- [18] Li L Z, Gao P Y, Song S J, *et al.* Monoterpenes and flavones from the leaves of *Crataegus pinnatifida* with anticoagulant activities [J]. *J Funct Foods*, 2015, 12: 237-245.
- [19] 朱虹, 唐生安, 秦楠, 等. 旋覆花中化学成分及其活性研究 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(1): 83-88.
- [20] Kim K H, Moon E, Kim H K, *et al.* Phenolic constituents from the rhizomes of *Acorus gramineus* and their biological evaluation on antitumor and anti-inflammatory activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(19): 6155-6159.
- [21] Gu Q, Zhang X M, Zhou J, *et al.* One new dihydrobenzofuran lignan from *Vitex trifolia* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(5/6): 499-502.
- [22] Miyakoshi M, Shirasuna K, Hirai Y, *et al.* Triterpenoid saponins of *Acanthopanax nipponicus* leaves [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(3): 445-448.
- [23] Wei Y, Xie Q Q, Fisher D, *et al.* Separation of patuletin-3-O-glucoside, astragaloside, quercetin, kaempferol and isorhamnetin from *Flaveria bidentis* (L.) Kuntze by elution-pump-out high-performance counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(36): 6206-6211.
- [24] 黄丽杰, 刘伟, 崔永霞. 胡颓子叶化学成分的研究 [J]. *中成药*, 2015, 37(4): 796-800.
- [25] 罗会畏. 辛夷化学成分及药理活性研究 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2013.
- [26] Plioukas M, Termentzi A, Gabrieli C, *et al.* Novel acylflavones from *Sideritis syriaca* ssp. *syriaca* [J]. *Food Chem*, 2010, 123(4): 1136-1141.
- [27] Gantimur D, Syrchina A I, Semenov A A. New glycosides from plants of the genus *Phlojodicarpus* [J]. *Chem Nat Compd*, 1986, 22(1): 32-35.
- [28] Nganou B K, Mbaveng A T, Fobofou S A T, *et al.* Furoquinolines and dihydrooxazole alkaloids with cytotoxic activity from the stem bark of *Araliopsis soyauxii* [J]. *Fitoterapia*, 2019, 133: 193-199.
- [29] Vijayalakshmi A, Geetha M. Anti-psoriatic activity of flavonoids from *Cassia tora* leaves using the rat ultraviolet B ray photodermatitis model [J]. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, 2014, 24(3): 322-329.
- [30] Vassallo A, Cioffi G, De Simone F, *et al.* New flavonoid glycosides from *Chrozophora senegalensis* and their antioxidant activity [J]. *Nat Prod Commun*, 2006, 1(12): 1089-1095.

- [31] 薛涛涛, 唐志书, 孙强, 等. 药蜀葵中总黄酮提取工艺优化及其生物活性研究 [J]. 中南药学, 2022, 20(2): 334-339.
- [32] Robak J, Gryglewski R J. Bioactivity of flavonoids [J]. *Pol J Pharmacol*, 1996, 48(6): 555-564.
- [33] Proença C, Freitas M, Ribeiro D, et al.  $\alpha$ -Glucosidase inhibition by flavonoids: An *in vitro* and *in silico* structure-activity relationship study [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2017, 32(1): 1216-1228.
- [34] Yuca H, Özbek H, Demirezer L Ö, et al. *trans*-Tiliroside: A potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from the leaves of *Elaeagnus angustifolia* L [J]. *Phytochemistry*, 2021, 188: 112795.
- [35] 蔡萧君, 李宇, 胡杨, 等. 基于血液代谢组学技术的甲氨蝶呤抗类风湿性关节炎作用机制研究 [J]. 世界中医药, 2021, 16(2): 242-248.
- [36] Steinhilber D, Hofmann B. Recent advances in the search for novel 5-lipoxygenase inhibitors [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2014, 114(1): 70-77.

[责任编辑 王文倩]

## • 封面图片介绍 •

### 栝 楼



栝楼为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim.或双边栝楼 *T. rosthornii* Harms 的干燥成熟果实。攀援藤本，长达10 m；茎较粗，多分枝，具纵棱及槽，被白色伸展柔毛；叶片纸质，轮廓近圆形；叶柄长3~10 cm，具纵条纹，被长柔毛；卷须3~7歧，被柔毛。花雌雄异株。雄总状花序单生，或与一单花并生，或在枝条上部者单生，总状花序长10~20 cm，粗壮，具纵棱与槽，被微柔毛，顶端有5~8花，单花花梗长约15 cm，花梗长约3 mm，小苞片倒卵形或阔卵形，长1.5~2.5 cm，宽1~2 cm，中上部具粗齿，基部具柄，被短柔毛；花萼筒筒状，长2~4 cm，顶端扩大，径约10 mm，中、下部径约5 mm，被短柔毛，裂片披针形，长

10~15 mm，宽3~5 mm，全缘；花冠白色，裂片倒卵形，长20 mm，宽18 mm，顶端中央具1绿色尖头，两侧具丝状流苏，被柔毛；花药靠合，长约6毫米，径约4 mm，花丝分离，粗壮，被长柔毛。雌花单生，花梗长7.5 cm，被短柔毛；花萼筒圆筒形，长2.5 cm，径1.2 cm，裂片和花冠同雄花；子房椭圆形，绿色，长2 cm，径1 cm，花柱长2 cm，柱头3。果梗粗壮，长4~11 cm。花期5~8月，果期8~10月。

栝楼入药部位为果实，其果实呈类球形或宽椭圆形，长7~15 cm，直径6~10 cm。表面橙红色或橙黄色，皱缩或较光滑，顶端有圆形的花柱残基，基部略尖，具残存的果梗。轻重不一。质脆，易破开，内表面黄白色，有红黄色丝路，果瓢橙黄色，黏稠，与多数种子粘结成团。具焦糖气，味微酸、甜。具有清热涤痰、宽胸散结、润燥滑肠的功效，用于肺热咳嗽，痰浊黄稠，胸痹心痛，结胸痞满，乳痈，肺痈，肠痈，大便秘结。