

黄腺香青苯并呋喃类化学成分及其抗菌和抗氧化活性研究

吴机伶^{1,2}, 郑泽江^{1#}, 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^{1,4*}, 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

4. 三峡大学水利与环境学院, 湖北 宜昌 443002

摘要: **目的** 对黄腺香青 *Anaphalis aureopunctata* 的化学成分及活性进行研究。**方法** 采用 Sephadex LH-20 柱色谱, 正、反相硅胶柱色谱以及半制备高效液相色谱等分离方法, 纯化分离得到化合物, 通过理化性质鉴别、NMR、MS 等手段鉴定其结构。通过抗菌和抗氧化评价所得化合物的活性。**结果** 从中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 5-羟基-6-(3-甲基-2-丁烯基)-7-*O*- β -D-葡萄糖苷-1(3*H*)-异苯并呋喃酮 (1)、5,7-二羟基-1(3*H*)-异苯并呋喃酮 (2)、platypterophthalide (3)、7-*O*- β -D-葡萄糖基阔翼内酯 (4)、香青醇 (5)、anaphalisol 7-*O*- β -D-glucopyranoside (6)。抗菌活性表明, 6 个化合物对 2 种革兰阳性菌的抑制作用更为明显; 抗氧化活性表明, 化合物 1、2、4、6 对 ABTS 自由基的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 59.81、76.02、65.01、77.23 μ mol/L。**结论** 化合物 1 和 4 为新化合物, 分别命名为香青异戊烯苷 (1) 和香青阔翼内酯葡萄糖苷 (4); 化合物 6 为首次从香青属中分离得到, 化合物 2、3、5 和 6 为首次从该植物中得到, 所有化合物对 2 种革兰阳性菌有一定的抑制效果, 化合物 1、2、4、6 表现出良好的抗氧化活性。

关键词: 黄腺香青; 苯并呋喃; 香青异戊烯苷; 香青阔翼内酯葡萄糖苷; 5,7-二羟基-1(3*H*)-异苯并呋喃酮; 抗菌作用; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)11-3791-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.11.002

Benzofurans from *Anaphalis aureopunctata* and their antimicrobial and antioxidant activities

WU Jiling^{1,2}, ZHENG Zejiang¹, LI Biao³, CHENG Fan¹, HUANG Nianyu¹, GUO Zhiyong¹, CHEN Jianfeng¹, LIU Chengxiong¹, YU Xiaoqin¹, ZHOU Lan^{1,4}, ZOU Kun¹

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

4. College of Hydraulic and Environmental Engineering, China Three Gorges University, Yichang 443002, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents and bioactivities of *Anaphalis aureopunctata*. **Methods** Compounds were isolated through chromatographic techniques, including Sephadex LH-20 column chromatography, normal and reversed-phase silica gel column chromatography, and semi-preparative HPLC. The structures of the isolated compounds were elucidated by means of physicochemical properties and spectral analyses (NMR, MS). The antimicrobial and antioxidant activities of the compounds were evaluated. **Results** Six compounds were isolated and identified as 5-hydroxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-7-*O*- β -D-glucopyranosyl-

收稿日期: 2025-03-17

基金信息: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (82204237); 天然产物研究与利用湖北省重点实验室 (2024NPRD01, 2024NPRD06)

作者简介: 吴机伶, 硕士。E-mail: 2671481523@qq.com

#共同第一作者: 郑泽江, 硕士。E-mail: 1071704932@qq.com

*通信作者: 尉小琴, 博士, 讲师, 主要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, 博士后, 主要从事微生物的功能开发与资源利用研究。Tel: 15827549756 E-mail: zhoulan@ctgu.edu.cn

1(3*H*)-isobenzofuranone (1), 5,7-dihydroxy-1(3*H*)-isobenzofuranone (2), platypterophthalide (3), 7-*O*- β -*D*-glucosyl-platypterophthalide (4), anaphaliol (5), and anaphalisol 7-*O*- β -*D*-glucopyranoside (6). Antimicrobial activity assays revealed that the six compounds exhibited more pronounced inhibitory effects against the two Gram-positive bacterial strains. Antioxidant activity assays indicated that the IC₅₀ values of compounds 1, 2, 4, and 6 against ABTS radicals were 59.81, 76.02, 65.01, and 77.23 μ mol/L. **Conclusion** New compounds 1 and 4 were named as anaphaloprenoside (1) and anaphalopteroside (4). Compounds 6 were isolated from the genus *Anaphalis* for the first time. Compounds 2, 3, 5, and 6 were obtained from this plant for the first time. All six compounds showed certain inhibitory effects against the two Gram-positive bacteria, and compounds 1, 2, 4, and 6 demonstrated good antioxidant activities.

Key words: *Anaphalis aureopunctata* Lingelsh. & Borza; benzofuran; anaphaloprenoside; anaphalopteroside; 5,7-dihydroxy-1(3*H*)-isobenzofuranone; antibacterial activity; antioxidant activity

黄腺香青 *Anaphalis aureopunctata* Lingelsh. & Borza 为菊科 (Asteraceae) 香青属植物, 生长于山地和湿地, 海拔 1 000~2 700 m, 在我国分布较为广泛^[1], 香青属在民间应用历史悠久^[2], 可全草入药, 具有祛痰、镇咳、平喘、止痢的功效, 常用于外感咳嗽、支气管炎、肠炎、痢疾等症^[3-4]。香青属植物大多含有挥发油、鞣质、酚酸、香豆素、生物碱以及还原性多糖^[5], 其中黄酮类、吡喃酮类、内酯类及萜类等为主要成分^[6-7], 据报道^[6,8-9], 香青属的药理活性包括镇咳、祛痰、消炎、抗氧化、镇静等。香青属作为一种具有广泛药用价值的植物, 研究较为多的是其挥发油成分, 其中含有多种抗癌成分, 对多种肿瘤细胞具有显著的抑制活性^[2,6]。然而, 其他化学成分及其潜在的药理活性仍需进一步深入研究。苯并呋喃类化合物是一类具有重要生物活性的杂环化合物, 存在于许多生物活性天然产物以及药物和聚合物中^[10], 苯并呋喃骨架具有多种生物学特性, 包括降血糖、镇痛、抗寄生虫、抗菌、抗肿瘤和激酶抑制活性^[11-12]。因此有必要对黄腺香青中的苯并呋喃类成分进行深入研究, 扩大黄腺香青的应用范围, 同时也有助于开发新的天然药物资源。通过对黄腺香青的乙醇提取物中的化学成分及其活性进行研究, 共分离得到 6 个苯并呋喃类化合物 (结构见图 1), 分别鉴定为 5-羟基-6-(3-甲基-2-丁烯基)-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷-1(3*H*)-异苯并呋喃酮 [5-hydroxy-6-(3-methyl-2-butenyl)-7-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-1(3*H*)-isobenzofuranone, 1]、5,7-二羟基-1(3*H*)-异苯并呋喃酮 [5,7-dihydroxy-1(3*H*)-isobenzofuranone, 2]、platypterophthalide (3)、7-*O*- β -*D*-葡萄糖基阔翼内酯 (7-*O*- β -*D*-glucosyl-platypterophthalide, 4)、香青醇 (anaphaliol, 5)、anaphalisol 7-*O*- β -*D*-glucopyranoside (6), 其中化合物 1 和 4 为新化合物, 分别命名为香青异戊烯苷

(1) 和香青阔翼内酯葡萄糖苷 (4)。活性结果显示, 所有化合物对革兰阳性菌 (金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌) 的抑制效果较为明显, 化合物 1、2、4、6 表现出良好的抗氧化活性。

1 仪器与材料

LC-2030C 3D Plus 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); P2050 半制备型液相色谱仪 (广州睿柏仪器科技有限公司); Bruker AV 400 核磁共振波谱仪 (瑞士布鲁克公司); Anton paar MCP 5100 型高精度旋光仪 (奥地利 Anton paar 公司); LDZH-100L 型立式高压蒸汽灭菌器 (上海申安医疗器械厂); C₁₈ 反相色谱硅胶 (YMC 公司); 正相色谱硅胶 (烟台化工研究所); 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 $\times$ 10 mm, 10 μ m, 半制备型; 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m, 分析型, 日本 Cosmosil 公司); 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one, PMP, 上海源叶生物科技有限公司); LB 营养琼脂、LB 肉汤 (海博生物技术有限公司); 环丙沙星 [批号 Y5E6REUM, 萨恩化学技术(上海)有限公司]; 2,2'-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二胺盐 [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate, ABTS, 山东科源生化有限公司]; *L*-抗坏血酸 (批号 C15946658, 上海麦克林生化科技有限公司)。

黄腺香青全草于 2022 年 10 月采自湖北省神农架, 由三峡大学生物与制药学院王玉兵教授鉴定为黄腺香青 *A. aureopunctata* Lingelsh. & Borza, 自然阴干后备用。标本 (2022SNJ01) 保藏于湖北省天然产物研究与利用重点实验室。

2 提取与分离

将干燥后的黄腺香青全草切成 2~3 cm 的小段, 取 2.5 kg 加 10 倍量的 95%乙醇, 回流提取 3 次,

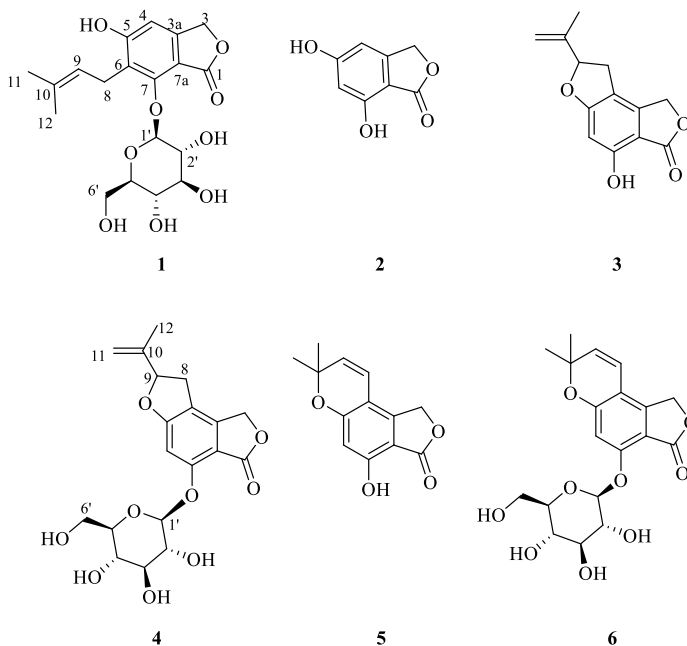


图 1 化合物 1~6 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—6

每次 2 h。合并提取液，减压浓缩，得总浸膏 221.9 g。用水复溶后，依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取，合并各部位萃取液，减压浓缩后得石油醚部位 45.8 g、醋酸乙酯部位 36.8 g、正丁醇部位 25.4 g、水部位 92.0 g。

取石油醚部位浸膏过正相硅胶柱（100~200 目），以石油醚-醋酸乙酯（100：0→0：100）梯度洗脱，得到 45 个组分 Fr. 1~45。Fr. 20（0.9 g）过正相硅胶柱，以石油醚-醋酸乙酯（100：0→0：100）梯度洗脱，得到 Fr. 20-1~20-15，Fr. 20-8（97.0 mg）经半制备型 HPLC 分离纯化 [乙腈-水（80：20）洗脱，体积流量 3 mL/min] 得到化合物 3（14.3 mg， $t_R=13.2$ min）。Fr. 20-10（121.5 mg）经半制备型 HPLC 分离纯化 [乙腈-水（80：20）洗脱，体积流量 3 mL/min] 得到化合物 5（3.3 mg， $t_R=11.4$ min）。

取醋酸乙酯萃取部位浸膏过正相硅胶柱，以二氯甲烷-甲醇（100：0→0：100）梯度洗脱，得到 49 个组分 Fr. 1~49。Fr. 20（1.5 g）经葡聚糖凝胶柱色谱（Sephadex LH-20，甲醇洗脱），得到 Fr. 20-1~20-10。Fr. 20-3（295.5 mg）经半制备型 HPLC 分离纯化 [甲醇-水（40：60）洗脱，体积流量 3 mL/min] 得到化合物 4（5.5 mg， $t_R=23.5$ min）、6（4.3 mg， $t_R=26.7$ min）。Fr. 22（1.1 g）经葡聚糖凝胶柱色谱（Sephadex LH-20，甲醇体系），得到 Fr. 22-1~22-12。Fr. 22-3（190.0 mg）经半制备型 HPLC 分离纯

化（甲醇-水 40：60 洗脱，体积流量 3 mL/min）得到化合物 1（2.9 mg， $t_R=21.1$ min）。

取正丁醇部位浸膏过反相硅胶柱，以甲醇-水（10%→100%）变梯度洗脱，得到 17 个组分 Fr. 1~17。Fr. 3（0.3 g）经半制备型 HPLC 分离纯化 [甲醇-水（20：80）洗脱，体积流量 3 mL/min] 得到化合物 2（7.8 mg， $t_R=6.5$ min）。

3 化合物的酸水解及衍生化反应

参考孙淼杰等^[13]的实验方案，进行化合物的水解及衍生化反应，通过高效液相色谱对糖衍生物进行检测。具体操作如下：取待测化合物 1 mg，加入 2 mL 的 2 mol/L 盐酸溶液，混匀，密封后在 80 °C 下水解 1 h^[14]。将水解液蒸干溶剂，加甲醇反复蒸干至中性。残渣加 2 mL 水溶解后用醋酸乙酯萃取 3 次，取水层 1 mL 加入 400 μ L 的 0.3 mol/L 氢氧化钠溶液和 400 μ L 的 0.5 mol/L PMP 溶液，混匀，密封后在 70 °C 水浴下反应 40 min，取出冷却至室温，加入 400 μ L 的 0.3 mol/L 盐酸溶液调至中性。反应液用氯仿萃取 3 次，取水层经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过，取续滤液，通过高效液相色谱，将糖衍生物与标准品的衍生物进行对照分析^[13]。

色谱条件：Cosmosil MS-II RP-C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μ m）；流动相为乙腈（A）-0.1%磷酸盐缓冲液（B），等度洗脱（0~60 min，18%A）；体积流量 1 mL/min，柱温 30 °C，进样量 10 μ L。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末; $[\alpha]_D^{20} -90.0^\circ$ (c 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 227.3, 262.9. HR-ESI-MS m/z 419.132 3 $[M + Na]^+$ (计算值 419.131 8, $C_{19}H_{24}O_9Na$), 推测其分子式为 $C_{19}H_{24}O_9$, 不饱和度为 8。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 389 (羟基)、2 934 (甲基)、1 734 (羰基)、1 613 (苯环)、1 459 (苯环)。化合物 **1** 的 ^{13}C -NMR (表 1) 数据共显示了 19 个碳信号, 包括 2 个甲基信号、2 个 sp^2 杂化的次甲基信号、5 个 sp^3 杂化的次甲基信号、3 个亚甲基信号和 7 个季碳信号。结合 DEPT 135 谱图, δ_{C} 172.5 为内酯羰基碳信号, δ_{C} 150.4, 104.8, 164.9, 125.6, 155.8, 108.6 为苯环的碳信号, δ_{C} 70.2 为连氧亚甲基碳信号。而 δ_{C} 105.1 (C-6), 75.6, 78.0, 75.1, 78.3, 62.3 提示葡萄糖基信号的存在。其 ^1H -NMR 谱中, 芳香质子信号出现在 δ_{H} 6.71 (1H, s), 1 组异戊烯基信号出现在 $[\delta_{\text{H}}$ 5.19 (1H, m), δ_{H} 3.39 (1H, m, H-8a), 3.60 (1H, m, H-8b), δ_{H} 1.64 (3H, s) 和 δ_{H} 1.78 (3H, s)], 此外, δ_{H} 5.26 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 3.23~3.79 (6H, m) 处, 共检测到 7 个质子信号, 进一步佐证葡萄糖基

团的存在。根据 δ_{H} 5.26 (H-1') 处较大的偶合常数 (7.6 Hz), 确定葡萄糖基其为 β -构型。

在 HMBC 谱中, 葡萄糖端基质子 H-1' (δ_{H} 5.26) 与 C-7 (δ_{C} 155.8) 有相关, 提示葡萄糖连接在 C-7 处; H-8 (δ_{H} 3.39, 3.60) 与芳环碳 C-5 (δ_{C} 164.9)、C-6 (δ_{C} 125.6) 和 C-7 (δ_{C} 155.8) 的相关峰, 表明异戊烯基基团连接在 C-6 上。亚甲基质子 H-3 (δ_{H} 5.19, 2H) 与内酯羰基 C-1 (δ_{C} 172.5), 芳环碳 C-3a (δ_{C} 150.4)、C-7a (δ_{C} 108.6) 的 HMBC 相关, 以及芳环质子 H-4 (δ_{H} 6.71) 与 C-3 (δ_{C} 70.2)、C-5 (δ_{C} 164.9)、C-6 (δ_{C} 125.6) 的相关峰表明 γ -内酯环与苯环并联。H-4 (δ_{H} 6.71) 与 H-3 (δ_{H} 5.19) 的 NOESY 相关, 表明羰基与葡萄糖基团分别位于 C-7a 的两侧 (图 2)。经 HCl 水解和 PMP 衍生化分析后, 显示化合物 **1** 水解产物 ($t_{\text{R}} = 36.2$ min) 与标准品 *D*-葡萄糖 ($t_{\text{R}} = 36.0$ min) 的保留时间吻合, 故化合物 **1** 结构中的葡萄糖为 *D*-葡萄糖。以上结果表明, 该结构为 5-羟基-6-(3-甲基-2-丁烯基)-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷-1(3*H*)-异苯并呋喃酮。经 Scifinder 数据库检索, 该化合物为新化合物, 命名为香青异戊烯苷。

表 1 化合物 **1** 和 **4** 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (400/100 MHz, CD_3OD)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compounds **1** and **4** (400/100MHz, CD_3OD)

碳位	1		4	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		172.5		172.1
3	5.19 (2H, m)	70.2	5.22 (2H, s)	69.3
3a		150.4		115.3
4	6.71 (1H, s)	104.8		146.9
5		164.9		169.0
6		125.6	6.71 (1H, s)	98.5
7		155.8		159.1
7a		108.6		106.9
8	3.39 (1H, m), 3.60 (1H, m)	24.3	2.98 (1H, dd, $J = 7.7, 15.6$ Hz), 3.36 (1H, dd, $J = 5.7, 15.6$ Hz)	32.1
9	5.19 (m)	123.7	5.41 (1H, m)	89.8
10		132.2		144.9
11	1.64 (3H, s)	25.9	4.93 (1H, s), 5.10 (1H, s)	112.9
12	1.78 (3H, s)	18.2	1.77 (3H, s)	17.1
1'	5.26 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	105.1	5.03 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	102.1
2'	3.53 (1H, m)	75.6	3.55 (1H, m)	74.3
3'	3.45 (1H, m)	78.0	3.49 (1H, m)	77.4
4'	3.45 (1H, m)	75.1	3.41 (1H, m)	71.2
5'	3.23 (1H, m)	78.3	3.48 (1H, m)	78.4
6'	3.65 (1H, dd, $J = 5.3, 11.9$ Hz)	62.3	3.69 (1H, dd, $J = 5.7, 12.2$ Hz),	62.4
	3.79 (1H, dd, $J = 2.3, 11.9$ Hz)		3.90 (1H, dd, $J = 2.1, 12.2$ Hz)	

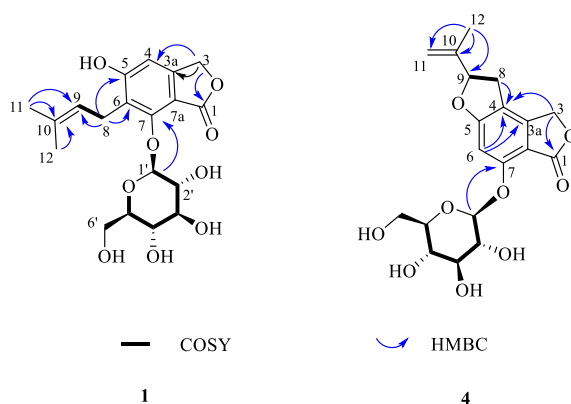


图 2 化合物 1 和 4 关键的 HMBC (H→C)、¹H-¹H COSY 和 NOESY 信号

Fig. 2 Key HMBC, ¹H-¹H COSY and NOESY correlations of compounds 1 and 4

化合物 2: 白色针状物 (丙酮), ESI-MS 显示 m/z 167.0 $[M+H]^+$, 再结合氢谱、碳谱信号, 提示分子式为 $C_8H_6O_4$, 不饱和度为 6。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 222.0, 248.0。¹H-NMR (400 MHz, CD_3OD) 谱显示有 2 个芳环质子信号 [δ_H 6.39 (1H, s, H-4), 6.29 (1H, d, $J=1.2$ Hz, H-6)], 连氧亚甲基信号 [5.18 (2H, s, H-3)]。结合 ¹³C-NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 172.8 (C-1), 167.0 (C-3), 159.7 (C-5), 152.7 (C-7), 104.3 (C-8), 103.4 (C-4), 101.5 (C-6), 70.6 (C-3)。并与文献报道对比^[15], 故鉴定化合物 2 为 5,7-二羟基-1(3*H*)-异苯并呋喃酮。

化合物 3: 无色晶体 (氯仿), ESI-MS m/z : 233.0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{12}O_4$; UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 219.8, 264.2。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 表明该化合物含有 1 个甲基 1.77 (3H, s, H-12), 2 个末端双键质子信号 δ_H 5.09 (1H, s, H-11a), 4.95 (1H, s, H-11b)。 δ : 7.79 (1H, s, OH), 6.40 (1H, s, H-6), 5.36 (1H, dd, $J=19.1$, 10.4 Hz, H-9), 5.21 (1H, s, H-3), 3.34 (1H, dd, $J=15.8$, 9.8 Hz, H-8), 3.00 (1H, dd, $J=15.8$, 7.7 Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 172.5 (C-1), 168.4 (C-5), 153.1 (C-7), 149.2 (C-3a), 143.1 (C-10), 112.9 (C-11), 112.8 (C-4), 104.7 (C-7a), 95.9 (C-6), 88.4 (C-9), 70.4 (C-3), 30.5 (C-8), 17.1 (C-12)。将该化合物数据与文献对比^[16], 发现其与已知化合物 platyterophthalide 平面结构相同, C-9 绝对构型待定。

化合物 4: 无色粉末; $[\alpha]_D^{20}-20.4^\circ$ (c 0.15, MeOH) UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 225.6, 266.4。ESI-MS m/z 417.1155 $[M+Na]^+$ (计算值 417.1162, $C_{19}H_{22}O_9Na$), 推测其分子式为 $C_{19}H_{22}O_9$, 不饱和度为 9。IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3424 (羟基)、2931 (甲基)、1760 (羰基)。结合红外特征, 分析该化合物的 ¹H-NMR 数据 (表 1)

δ_H 5.41 (1H, m, H-9), 5.10 (1H, s, H-11), δ_H 4.93 (1H, s, H-11), δ_H 2.98 (1H, dd, $J=7.7$, 15.6 Hz, H-8), δ_H 3.36 (1H, dd, $J=6.7$, 15.6 Hz, H-8), 1.77 (3H, s, H-12), 推测其可能含有 2-异丙烯基苯并呋喃片段。其 ¹H-NMR 谱图中显示 1 个芳环质子 [δ_H 6.71 (1H, s, H-6)], 连氧亚甲基 [δ_H 5.22 (2H, m, H-3)] 和 1 组 β -葡萄糖基团信号 [δ_H 5.03 (1H, d, $J=7.6$ Hz), 3.41~3.90 (6H, m)]。分析其 ¹³C-NMR 和 DEPT135 谱, 发现芳环碳信号 δ_C 169.0 (C-5), 159.1 (C-7), 115.3 (C-3a), 146.9 (C-4), 106.9 (s, C-7a), 98.5 (C-6); 异丙烯基苯并呋喃环信号 δ_C 144.9 (C-10), 112.9 (C-11), 88.9 (C-9), 32.1 (C-8), 17.1 (C-12) 和内酯环信号 δ_C 172.1 (C-1), 69 (C-3)。6 个碳信号 [δ_C 102.1 (C-1'), 74.3 (C-2'), 77.4 (C-3'), 71.2 (C-4'), 78.4 (C-5'), 62.4 (C-6')] 进一步证实了个 β -葡萄糖单元的存在。结合文献数据对比, 发现化合物 4 是化合物 3 的类似物^[11], 其主要差别在于, 化合物 4 分子中多了 1 个葡萄糖基团。

在 HMBC 谱中, 亚甲基质子 H-3 (δ_H 5.22) 与 C-1 (δ_C 172.1)、C-4 (δ_C 146.9)、C-3a (δ_C 115.3)、C-7a (δ_C 106.9) 有相关峰, 证实内酯环与芳环的连接, H-6 (δ_H 6.71) 与 C-4、C-5、C-7、C-7a 的相关, 亚甲基质子 H-8 (δ_H 2.98 和 δ_H 3.36) 与 C-9、C-5、C-4、C-3a 的相关, 表明异丙烯基连接于 C-5。葡萄糖端基质子 H-1' (δ_H 5.03) 与 C-7 (δ_C 159.1) 的相关峰表明葡萄糖连接在 C-7 上。

结合 ¹H-¹H COSY、HSQC 等谱图, 将化合物 4 的核磁数据归属, 详情见表 1 和图 2。经 HCl 水解和 PMP 衍生化分析后, 显示化合物 4 水解产物 ($t_R=36.5$ min) 与标准品 *D*-葡萄糖 ($t_R=36.0$ min) 的保留时间吻合, 故化合物 4 结构中的葡萄糖为 *D*-葡萄糖。经 Scifinder 数据库检索, 该化合物为新化合物, 结

构为 7-*O*- β -D-葡萄糖基阔翼内酯, 命名为香青阔翼内酯葡萄糖苷。

化合物 **5**: 无色晶体(氯仿), ESI-MS m/z : 233.0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{12}O$; UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 245.0, 297.0; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 谱中显示有 2,2-二甲基-苯并呋喃衍生物信号 [δ_H 6.15 (1H, d, $J=9.9$ Hz, H-8), 5.63 (1H, d, $J=9.9$ Hz, H-9), 1.46 (6H, s, H-11, 12)]; ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) 显示有芳基碳吸收峰 [δ_C 161.0 (C-5), 157.5 (C-7), 142.9 (C-3a), 108.6 (C-4), 103.9 (C-7a), 103.9 (C-6)]; 2,2-二甲基-吡喃环 [δ_C 129.7 (C-9), 116.6 (C-8), 78.1 (C-10), 28.4 (C-11, 12)]; γ 内酯环 [δ_C 172.4 (C-1), 69.4 (C-3)]。结合文献中的数据^[17-18], 鉴定化合物 **5** 为香青醇。

化合物 **6**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 395.1 $[M+H]^+$, 再结合氢谱、碳谱信号, 提示化合物 **6** 的分子式为 $C_{19}H_{22}O_9$; UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 245.3, 300.0; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) 谱图显示 2 个甲基信号 δ_H 1.46 (6H, d, $J=2.1$ Hz, H₃-11, 12), 1 组烯烃质子信号 δ_H 6.35 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-8), 5.77 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-9), 1 个芳环质子信号 δ_H 6.63 (1H, s, H-6), 1 组葡萄糖基质子信号 δ_H 5.04 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 3.89 (2H, dd, $J=12.0$ Hz, H-6'), 3.70 (1H, dd, $J=12.2, 5.5$ Hz, H-6'), 3.55 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-2'), 3.50 (2H, t, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 3.43 (1H, d, $J=9.1$ Hz, H-4'), 和 1 组连氧亚甲基信号 δ_H 5.30 (2H, s, H₂-3); 其中 ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) 包括 δ : 171.9 (C-1), 161.6 (C-5), 158.1 (C-7), 147.4 (C-3a), 131.2 (C-9), 117.3 (C-8), 110.7 (C-4), 107.1 (C-7a), 104.9 (C-6), 101.9 (C-1'), 79.5 (C-10), 78.4 (C-3'), 77.4 (C-5'), 74.3 (C-2'), 71.2 (C-4'), 69.4 (C-3), 62.4 (C-6'), 28.6 (C-11), 28.5 (C-12), 与化合物 **5** 相比, 多出 1 组葡萄糖就信号。经过文献比对, 发现该化合物与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **6** 为 anaphalisol 7-*O*- β -D-glucopyranoside。

5 活性评价

5.1 抗菌活性评价

参考陈体等^[20]和殷晓雨等^[21]的测定方法并进行修改, 采用微量稀释法测试 6 个化合物对 4 种细菌(大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌)的抑菌活性及最小抑菌浓度(minimal inhibit concentration, MIC), 用环丙沙星为阳性对照药。将大肠杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎链球菌、金黄

色葡萄球菌在琼脂培养基上划线, 得到单菌落, 挑取单菌落到 LB 肉汤培养基中 37 °C 恒温培养箱中培养 14 h 后, 进行菌种计数。用营养肉汤培养液将其稀释为 1×10^5 CFU/mL 的菌悬液备用, 将阳性对照药及待测化合物加 DMSO 配制成浓度为 50 mmol/L 的母液备用, 用 LB 肉汤培养基进行稀释。将菌悬液分别与阳性对照药、待测化合物 **1**~**6** 加入 96 孔板中, 使终浓度分别为 400、200、100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.56 μ mol/L, 37 °C 培养过夜后读取 MIC。结果(表 2)显示, 所有化合物对 2 种革兰阴性菌的 MIC 均 ≥ 200 μ mol/L, 对 2 种革兰阳性菌的 MIC 均 ≤ 100 μ mol/L, 可见 6 个化合物对 2 种革兰阳性菌有一定的抑制能力, 但远低于阳性对照。

表 2 化合物 **1**~**6** 的抗菌活性

Table 2 Antibacterial activity of compounds **1**—**6**

化合物	MIC/(μ mol L ⁻¹)			
	大肠杆菌	铜绿假单胞菌	肺炎链球菌	金黄色葡萄球菌
1	>400	200	100	100
2	200	>400	100	100
3	>400	>400	100	50
4	>400	>400	100	100
5	>400	>400	100	100
6	200	200	100	100
环丙沙星	3.125	3.125	1.560	3.125

5.2 ABTS 自由基清除活性

参考文献方法^[22]稍加调整, 将 7.4 mmol/L ABTS 溶液与 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液混匀, 25 °C 避光反应 12~16 h, 得到 ABTS 自由基工作液, 使用前用无水乙醇稀释, 在 96 孔板中加入 50 μ L 样品溶液和 150 μ L ABTS 乙醇溶液, 37 °C 避光反应 30 min, 用酶标仪在 734 nm 下测定吸光度, 以 L-抗坏血酸为阳性对照, 并设阴性对照和空白对照, 每组试验重复 3 次。将化合物配制成 100 μ mol/L 的溶液进行测定, 清除率大于 50% 的化合物进一步测定其半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC₅₀)值。结果(表 3)显示, 在浓度为 100 μ mol/L 时, 化合物 **3** 和 **5** 的 ABTS 自由基清除率均低于 20%, 阳性对照药的 IC₅₀ 值为 60.18 μ mol/L, 化合物 **1**、**2**、**4**、**6** 的 IC₅₀ 值分别为 59.81、76.02、65.01、77.23 μ mol/L。

6 讨论

本研究利用多种现代色谱分离手段从黄腺香青

表 3 化合物 1~6 的 ABTS 自由基清除率及 IC₅₀ 值
Table 3 ABTS radical clearance rate and IC₅₀ values of compounds 1-6

化合物	ABTS 自由基清除率/%	IC ₅₀ /(μmol L ⁻¹)
1	89.47	59.81±0.84
2	82.47	76.02±0.71***
3	18.26	
4	85.47	65.01±1.04***
5	5.19	
6	80.37	77.23±0.96***
L-抗坏血酸	92.79	60.18±1.23

与 L-抗坏血酸比较: ***P<0.001。

***P<0.001 vs L-ascorbic acid.

中分离得到 6 个苯并呋喃类化合物, 其中化合物 1、4 为新化合物, 分别为香青异戊烯苷 (1) 和香青阔翼内酯葡萄糖苷 (4)。对所有化合物进行了抗菌活性测试, 所有化合物对 2 种革兰阳性菌 (肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌) 抑制效果较为明显, 其 MIC 均≤100 μmol/L, 该类型的化合物有成为抗革兰阳性菌先导化合物的潜质; 测试了所有化合物 ABTS 自由基清除率, 化合物 1、2、4、6 均具有较明显的抗氧化活性。综上, 本研究丰富了黄腺香青苯并呋喃类化合物的研究, 分离得到的化合物表现出的抗菌和抗氧化活性, 这与已有研究中苯并呋喃类化合物的活性特征一致, 为该植物的资源开发利用提供了一定的参考。但仍存在一些不足之处, 对黄腺香青中的部分化合物进行了抗菌和抗氧化活性测试, 其他方面的活性还有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志 (第 75 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 180.
- [2] 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.
- [3] 罗荣耀, 张颖帆, 陈德坤, 等. 香青内生真菌 *Metapochonia bulbilosa* XQ-4 的次级代谢产物研究 [J]. 中南药学, 2022, 20(10): 2217-2222.
- [4] 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.
- [5] 袁彦平, 刘兆平, 金东庆. 乳白香青治疗气管炎的动物实验研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(6): 72.
- [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] Ikramov M T, Khalmatov K K, Batirov É K, et al.

- Flavonoids of *Anaphalis Velutina* [J]. *Chem Nat Compd*, 1986, 22(2): 230-231.
- [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] 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.
- [10] Miao Y H, Hu Y H, Yang J, et al. Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(47): 27510-27540.
- [11] Xu Z, Zhao S J, Lv Z S, et al. Benzofuran derivatives and their anti-tubercular, anti-bacterial activities [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 162(2): 266-276.
- [12] Miao Y H, Hu Y H, Yang J, et al. Natural source, bioactivity and synthesis of benzofuran derivatives [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(47): 27510-27540.
- [13] 孙森杰, 王艳林, 韩欣桐, 等. 三七根茎中黄酮类成分及其抗血小板聚集活性研究 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1500-1507.
- [14] 汪汇, 温明椿, 姜宗德, 等. 不同茶类中黄酮醇苷酸水解条件的优化及酸水解前后 3 种黄酮醇含量的测定 [J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(21): 8390-8396.
- [15] 肖凯, 宣利江, 徐亚明, 等. 虎杖的水溶性成分研究 [J]. 中草药, 2003, 34(6): 19-21.
- [16] Jakupovic J, Schuster A, Sun H, et al. Prenylated phthalides from *Anaphalis araneosa* and *Helichrysum platypterum* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(2): 580-581.
- [17] Wang A X, Yan F L, Jia Z J. A new furobenzopyranone from *Anaphalis lactea* [J]. *Chin Chem Lett*, 2004, 15(10): 1185-1186.
- [18] Wang A X, Zhang Q, Jia Z J. A new furobenzopyranone and other constituents from *Anaphalis lactea* [J]. *Pharmazie*, 2004, 59(10): 807-811.
- [19] Zhang Y, Yang Y L, Ruan J Y, et al. Isobenzofuranones from the aerial parts of *Leontopodium leontopodioides* (wild.) beaur [J]. *Fitoterapia*, 2018, 124(1): 66-72.
- [20] 陈体, 余鹏飞. 抗寄生虫药物双氯酚对金黄色葡萄球菌的体外和体内抗菌活性研究 [J]. 中国感染控制杂志, 2024, 23(12): 1477-1485.
- [21] 殷晓雨, 吴凤琴, 彭琴, 等. 山梨酸钾与天然化合物联用对金黄色葡萄球菌抑制作用研究 [J]. 食品与发酵工业, 2025, doi: 10.13995/j.cnki.11-1802/ts.041288.
- [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.

[责任编辑 王文倩]