

昆仑雪菊黄酮类化学成分及其抗炎活性研究

沈建伟¹, 宋亚杰^{1,2}, 王洪伦¹

1. 中国科学院西北高原生物研究所 青海 西宁 810001

2. 烟台大学生命科学学院 山东 烟台 264005

摘要: 目的 研究昆仑雪菊 *Coreopsis tinctoria* 花的化学成分, 并对分离到的化合物进行抗炎活性研究。方法 使用 AB-8 大孔吸附树脂粗分, 制备液相对各粗分段进行精细分离得到单体化合物, 采用波谱技术鉴定化合物结构; 并采用脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 诱导 RAW 264.7 细胞建立的炎症模型对化合物抗炎活性进行筛选。结果 从昆仑雪菊醋酸乙酯萃取部位分离到 13 个黄酮类化合物, 分别鉴定为 (2R)-黄诺马苷 (1)、(2S)-黄诺马苷 (2)、花旗松素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (3)、紫柳黄素-7-O-β-D-葡萄糖苷 (4)、栎草亭-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (5)、gossypetin-5-O-(6''-(E)-caffeoyl)-β-D-glucoside (6)、紫柳因-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (7)、槲皮素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (8)、奥卡宁-4'-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (9)、8,3',4'-三羟基黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷 (10)、异奥卡宁 (11)、奥卡宁 (12)、栎草亭 (13)。Griess 实验显示化合物 4~6、9、11、12 对 RAW264.7 炎症模型细胞 NO 产生显著的抑制作用。结论 化合物 1、2、6 和 13 为首次从昆仑雪菊中分离得到的化合物; 化合物 4~6、9、11、12 具有一定的抗炎活性。

关键词: 昆仑雪菊; 黄酮类; 抗炎活性; (2R)-黄诺马苷; 紫柳黄素-7-O-β-D-葡萄糖苷; 奥卡宁

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)12-4171-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.12.002

Chemical constituents and anti-inflammatory activities of flavonoids in *Coreopsis tinctoria*

SHEN Jianwei¹, SONG Yajie^{1,2}, WANG Honglun¹

1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China

2. College of Life Sciences, Yantai University, Yantai 264005, China

Abstract: Objective To study chemical constituents of the flower of *Coreopsis tinctoria* and investigate the anti-inflammatory activity of these compounds. **Methods** Separation and purification were carried out using AB-8 macroporous adsorption resin, the monomer compounds were obtained by fine separation of each coarse segment by preparative liquid phase and the structure of compounds were identified using spectroscopic techniques. RAW 264.7 inflammatory model cells induced by lipopolysaccharides (LPS) were used to screen the anti-inflammatory activity of compounds. **Results** A total of 13 flavonoids were isolated from the ethyl acetate extract of *C. tinctoria* and identified as (2R)-flavanomarein (1), (2S)-flavanomarein (2), taxifolin-7-O-β-D-glucopyranoside (3), butin-7-O-β-D-glucoside (4), quercetagetin-7-O-β-D-glucopyranoside (5), gossypetin-5-O-(6''-(E)-caffeoyl)-β-D-glucoside (6), butein-4'-O-β-D-glucopyranoside (7), quercetin-7-O-β-D-glucopyranoside (8), okanin-4'-O-β-D-glucopyranoside (9), 8,3',4'-trihydroxyflavone-7-O-β-D-glucoside (10), isookanin (11), okanin (12), 3,3',4',5,6,7-hexahydroxyflavone (13). Griess experiments showed that compounds 4~6, 9, 11 and 12 have inhibitory effects on NO production in RAW264.7 inflammatory model cells. **Conclusion** Compound 1, 2, 6 and 13 are isolated for the first time from *C. tinctoria*; Compound 4~6, 9, 11 and 12 exhibit anti-inflammatory activity.

Key words: *Coreopsis tinctoria* Nutt.; flavonoids; anti-inflammatory activity; (2R)-flavanomarein; butin-7-O-β-D-glucopyranoside; okanin

收稿日期: 2024-12-24

基金项目: 青海省科技厅基础研究项目-昆仑雪菊抗炎活性成分及机制研究 (2022-ZJ-730)

作者简介: 沈建伟, 副研究员, 研究方向为天然产物化学。E-mail: jwshen@nwipb.cas.cn

昆仑雪菊, 学名两色金鸡菊 *Coreopsis tinctoria* Nutt., 又名雪菊, 为菊科 (Asteraceae) 金鸡菊属 *Coreopsis* L. 一年生草本植物, 原产北美观赏植物, 目前我国大部分地区均有栽培^[1]。从 2004 年开始, 新疆和田、喀什等地开始大规模种植昆仑雪菊, 到 2014 年种植面积已超 1.3 万 hm^2 , 且和田地区出产的昆仑雪菊品质最为优秀^[2]。

昆仑雪菊是一种养生、保健的天然植物, 其味甘、性平, 归甘、大肠经, 具有清热解毒、化湿止痢功效。现代药理研究表明, 昆仑雪菊在预防和治疗炎症性疾病方面效果显著。葡萄牙及新疆维吾尔族居民将其作为花茶冲饮, 用来预防和治疗高血压、高血脂、高血糖等心血管疾病^[3]。近 10 多年来, 昆仑雪菊的保健功能引起了国内外学者的关注。研究发现, 昆仑雪菊主要含有黄酮类、苯丙素类、甾醇类等化学成分, 黄酮类化合物是其发挥活性作用的主要成分, 具有降血糖、降血压、降血脂、抗氧化、抗炎及抗氧化等药理作用^[4]。在前期研究中, 本课题组通过建立的 RAW264.7 细胞炎症模型对石油醚相、醋酸乙酯相、正丁醇相进行了抗炎活性筛选, 筛选出醋酸乙酯萃取部位是最佳的抗炎活性部位。本研究通过对昆仑雪菊醋酸乙酯部位进行分离, 得到 13 个化合物, 分别为 (2R)-黄诺马苷 (2R-flavanomarein, **1**)、(2S)-黄诺马苷 (2S-flavanomarein, **2**)、花旗松素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (taxifolin-7-O- β -D-glucopyranoside, **3**)、紫柳黄素-7-O- β -D-葡萄糖苷 (butin-7-O- β -D-glucoside, **4**)、栎草亭-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (quercetagenin-7-O- β -D-glucopyranoside, **5**)、gossypetin-5-O-(6''-(E)-caffeoyl)- β -D-glucoside (**6**)、紫柳因-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (butein-4'-O- β -D-glucopyranoside, **7**)、槲皮素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (quercetin-7-O- β -D-glucopyranoside, **8**)、奥卡宁-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (okanin-4'-O- β -D-glucopyranoside, **9**)、8,3',4'-三羟基黄酮-7-O- β -D-葡萄糖苷 (8,3',4'-trihydroxyflavone-7-O- β -D-glucoside, **10**)、异奥卡宁 (isookanin, **11**)、奥卡宁 (okanin, **12**)、栎草亭 (3,3',4',5,6,7-hexahydroxyflavone, **13**)。其中, 化合物 **1**、**2**、**6** 和 **13** 为首次从金鸡菊属植物中分离得到。并通过 RAW264.7 细胞炎症模型对化合物抗炎活性进行筛选, 结果显示, 化合物 **4**~**6**、**9**、**11**、**12** 对炎症模型细胞 NO 炎症介质生成具有明显的抑制作用。

1 仪器与材料

AB104-N 型电子天平 (梅特勒上海有限公司); KQ3200B 型超声清洗机 (昆山市超声仪器有限公司); Agilent 1260 型高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); 汉邦 N7010 型半制备型液相色谱仪 (江苏汉邦科技有限公司); 岛津 LC-16P 液相色谱仪 (日本岛津公司); EYELAN-1100 型旋转蒸发器 (东京理化器械株式会社); ASCEND 600 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 优普超纯水机 (四川优普超纯科技有限公司); FD-1A-50 普通型冷冻干燥机 (上海继普电子科技有限公司); R2002 型星海王旋转蒸发器 (无锡星海王生化设备有限公司); 101 型电热鼓风干燥箱 (北京市永光明医疗仪器厂); EPOCH2 多功能酶标仪 (美国 Bio Tek 公司); Micro 21R 型高速冷冻离心机 (Thermo Fisher Scientific Inc.); HF151 UV 恒温二氧化碳培养箱 (上海力申科学仪器有限公司); SW-CJ-2FD 双人单面工作台 (江苏苏州精华设备有限公司); BE-9008 微孔板恒温振荡器 (上海言和仪器设备有限公司); LDZM-80KCS 型压力蒸汽灭菌锅 (上海申安医疗器械厂); 普通光学显微镜 (济南强胜光电仪器有限公司); IX 倒置显微镜 (日本 OLYMPUS); 无油式电动吸引器 (江苏鱼跃医疗设备有限公司); LS-750 型液氮罐 (四川成都金凤液氮容器有限公司)。分析型色谱柱 (Kromasil 100-5-C₁₈, 250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm , 瑞典阿克苏诺贝尔公司); 半制备色谱柱 (Kromasil 100-5-C₁₈, 250 mm $\times$ 21.2 mm, 5 μm , 瑞典阿克苏诺贝尔公司); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); 薄层硅胶板 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); 甲醇 (色谱纯, 赛孚瑞化工邯郸有限公司); 乙腈 (色谱纯, 云南新蓝景化学工业有限公司); 甲醇 (制备级, 湖北弗顿科学技术有限公司); 乙腈 (制备级, 云南新蓝景化学工业有限公司); 大孔吸附树脂 AB-8 (天津允开树脂科技有限公司)。

昆仑雪菊购于青海省西宁市八一路药材市场, 由青海民族大学药学院周党卫教授鉴定为菊科金鸡菊属两色金鸡菊 *C. tinctoria* Nutt. 的头状花, 药材标本存放于中国科学院西北高原生物研究所特色资源研究中心。

2 方法

2.1 提取与分离

取阴干的昆仑雪菊花 3.0 kg, 采用 80%乙醇常温渗漉提取, 提取液滤过后减压浓缩, 得提取浸膏 786.4

g。浸膏中加入 1.0 L 去离子水并充分分散,制成均一的混悬液。混悬液依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取,减压浓缩,得石油醚部位 94.0 g、醋酸乙酯部位 89.2 g、正丁醇部位 197.8 g。取醋酸乙酯萃取部位 70.0 g 溶于 200 mL 去离子水,制成均一混悬液。用 AB-8 大孔树脂静态吸附 24 h,吸附完毕后以 10 倍柱体积(BV)去离子水冲洗,除去水溶性杂质。依次用 20% (15 BV)、40% (10 BV)、60% (8 BV)、80% (8 BV)、100% (8 BV) 乙醇溶液进行洗脱。分别合并各浓度洗脱液,减压浓缩,得 20%乙醇洗脱部位(Fr1) 14.34 g、40%乙醇洗脱部位(Fr2) 14.89 g、60%乙醇洗脱部位(Fr3) 3.20 g、80%乙醇洗脱部位(Fr4) 1.53 g、100%乙醇洗脱部位(Fr5) 1.37 g。

将 20%乙醇洗脱部位(Fr1)静置,得析出物 Fr1-1。取 Fr1-1 加甲醇溶解,甲醇-水体系(半制备液相, 25%~60%甲醇, 15.0 mL/min)分离,得化合物 1 (126.2 mg, t_R =15.81 min)、2 (215.7 mg, t_R =16.06 min);取 Fr1-2 加甲醇溶解,半制备液相色谱纯化(10%~35%乙腈, 15.0 mL/min),得 Fr1-2-1、Fr1-2-2、Fr1-2-3、Fr1-2-4,再采用甲醇-水体系对 Fr1-2-1 进行纯化,得化合物 3 (68.4 mg, t_R =18.96 min);对 Fr1-2-3 采用甲醇-水体系分离,得到化合物 4 (121.5 mg, t_R =29.29 min)、5 (25.1 mg, t_R =28.99 min)。

将 40%乙醇洗脱部位(Fr2)静置,得析出物 Fr2-1 及上清液 Fr2-2。取 Fr2-1 甲醇溶解,采用半制备液相色谱制备(30%~80%甲醇, 15.0 mL/min)分离得到 Fr2-1-1~Fr2-1-3。进一步采用甲醇-水体系分离得化合物 6 (8.2 mg, t_R =29.91 min)、7 (10.6 mg, t_R =29.29 min)、8 (21.7 mg, t_R =21.63 min)、9 (73.5 mg, t_R =26.35 min)。采用半制备液相色谱(20%~60%甲醇, 15.0 mL/min)分离 Fr2-2 得 Fr2-2-1、Fr2-2-2、Fr2-2-3 及 Fr2-2-4。进一步分离得化合物 10 (73.5 mg, t_R =25.06 min)及 11 (25.9 mg, t_R =21.65 min)。进一步纯化 Fr2-2-4 得化合物 12 (35.5 mg, t_R =21.48 min)。

取 60%乙醇洗脱部位 Fr3 甲醇溶解后乙腈-水体系(半制备液相色谱, 20%~45%乙腈, 15.0 mL/min)分离,得 Fr3-1、Fr3-2 及 Fr3-3。进一步分离纯化 Fr3-2 (乙腈-水体系)得化合物 13 (27.1 mg, t_R =30.80 min)。

2.2 抗炎活性筛选

2.2.1 细胞炎症模型的建立

采用 LPS 诱导 RAW264.7 细胞建立细胞炎症模型。

(1) MTT 法检测不同浓度 LPS 对 RAW264.7 细胞活力的影响:取生长密度达到 80%的 RAW264.7 细胞,按计数后的密度计算,将细胞以 1.0×10^5 个/mL 的密度按每孔 100 μ L 接种于 96 孔板,于细胞培养箱中孵育 24 h 后,换成含有不同浓度 LPS 的 DMEM 培养基(含 2% FBS)继续培养 24 h,后每孔加 10 μ L 的 MTT 溶液,于细胞培养箱中孵育 4 h,最后丢弃原培养基,加 100 μ L DMSO,在微孔板震荡器上于 37 $^{\circ}$ C 震荡溶解 10 min,测定波长 490 nm 处的吸光度(A)值。按公式计算细胞活力。

$$\text{细胞活力} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

(2) Griess 法检测 LPS 对 RAW264.7 细胞上清液 NO 含量的影响:用预先配制好的完全培养基(DMEM+10% FBS)将 1 mol/L NaNO₂ 标准溶液稀释成 1、2、5、10、20、40、60、100 μ mol/L 的系列标准溶液。细胞铺板及给药方法同“2.2.1 (1)”,培养 24 h 后,取出 Griess Reagent I 和 II,使恢复室温。按 NO 试剂盒说明书操作。

2.2.2 化合物抗炎活性筛选

(1) MTT 法检测昆仑雪菊黄酮类化合物对 RAW 264.7 细胞活力影响:参考查阅文献确定各单体化合物作用于 RAW 264.7 细胞的浓度分别为 3.125、6.25、12.5、25.0、50.0、100.0 μ mol/L。细胞孵育 24 h 后,换成含有不同浓度各单体化合物的 DMEM 培养基(含 2% FBS)继续培养 24 h,进行细胞活力检测。细胞培养、铺板及 MTT 实验方法同“2.2.1 (1)”。

(2) Griess 法检测昆仑雪菊黄酮类化合物对 RAW264.7 细胞分泌 NO 影响:MTT 实验确定单体化合物最佳作用浓度后,按照“2.2.1 (1)”项方法进行细胞铺板。孵育 24 h 后,换成含有选定浓度各化合物及 5.0 μ g/mL LPS 的 DMEM 培养基(含 2% FBS)继续培养 24 h,利用 Griess 法检测上清液 NO 含量。具体操作方法同“2.2.1 (1)、2.2.1 (2)”。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1:淡黄色粉末,ESI-MS m/z : 473 [M+Na]⁺, 449 [M-H]⁻, C₂₁H₂₂O₁₁。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.22 (1H, d, J =8.9 Hz, H-5), 6.92 (1H, d, J =2.2 Hz, H-2'), 6.86 (1H, d, J =8.9 Hz, H-6), 6.77 (1H, dd, J =8.1, 2.2 Hz, H-6'), 6.74 (1H, d, J =8.1 Hz,

H-5'), 5.42 (1H, dd, $J = 12.4, 3.0$ Hz, H-2), 4.84 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 3.10 (1H, dd, $J = 16.8, 12.4$ Hz, H-3a), 2.70 (1H, dd, $J = 16.8, 3.0$ Hz, H-3b); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 79.6 (C-2), 43.8 (C-3), 191.6 (C-4), 117.1 (C-5), 109.4 (C-6), 151.0 (C-7), 135.6 (C-8), 151.2 (C-9), 116.9 (C-10), 130.3 (C-1'), 114.9 (C-2'), 146.1 (C-3'), 145.6 (C-4'), 115.7 (C-5'), 118.5 (C-6'), 101.8 (C-1''), 73.7 (C-2''), 76.2 (C-3''), 70.1 (C-4''), 77.7 (C-5''), 61.1 (C-6''). 以上波谱数据与文献报道一致^[5-6], 故鉴定化合物 **1** 为 (2*R*)-黄诺马苷。

化合物 **2**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 473 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 449 $[\text{M} - \text{H}]^-$, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.23 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 6.92 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.86 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6), 6.77 (1H, dd, $J = 8.1, 2.2$ Hz, H-6'), 6.75 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 5.42 (1H, dd, $J = 13.3, 2.9$ Hz, H-2), 4.81 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 3.12 (1H, dd, $J = 16.8, 13.3$ Hz, H-3a), 2.69 (1H, dd, $J = 16.8, 2.9$ Hz, H-3b); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 79.7 (C-2), 43.9 (C-3), 191.6 (C-4), 117.0 (C-5), 109.4 (C-6), 151.0 (C-7), 135.6 (C-8), 151.2 (C-9), 116.9 (C-10), 130.3 (C-1'), 115.0 (C-2'), 146.1 (C-3'), 145.6 (C-4'), 115.7 (C-5'), 118.5 (C-6'), 101.9 (C-1''), 73.7 (C-2''), 76.2 (C-3''), 70.1 (C-4''), 77.7 (C-5''), 61.1 (C-6''). 以上波谱数据与文献报道一致^[5-6], 故鉴定化合物 **2** 为 (2*S*)-黄诺马苷。

化合物 **3**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 465 $[\text{M} - \text{H}]^-$, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.96 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.94 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.22 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 4.96 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 4.95 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-2), 4.55 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-3), 3.87 (1H, dd, $J = 12.2, 2.2$ Hz, H-6''a), 3.67 (1H, dd, $J = 12.2, 5.5$ Hz, H-6''b), 3.39~3.47 (4H, m, H-2''~5''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 85.4 (C-2), 73.9 (C-3), 199.4 (C-4), 164.3 (C-5), 97.0 (C-6), 167.4 (C-7), 98.3 (C-8), 164.8 (C-9), 103.5 (C-10), 129.7 (C-1'), 116.0 (C-2'), 146.4 (C-3'), 147.3 (C-4'), 116.1 (C-5'), 121.0 (C-6'), 101.3 (C-1''), 74.7 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.2 (C-4''), 77.8 (C-5''), 62.4 (C-6''). 以上波谱数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **3** 为花旗松素-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **4**: 淡黄色粉末, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.67 (1H, dd, $J = 8.8, 1.6$ Hz,

H-5), 6.83 (1H, s, H-2'), 6.68 (2H, s, H-6', 5'), 6.65 (1H, dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, H-6), 6.58 (1H, dd, $J = 3.5, 2.4$ Hz, H-8), 5.22 (1H, dt, $J = 12.9, 2.9$ Hz, H-2), 4.90 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 79.8 (C-2), 43.7 (C-3), 192.3 (C-4), 128.1 (C-5), 110.8 (C-6), 164.1 (C-7), 103.9 (C-8), 163.6 (C-9), 115.6 (C-10), 130.4 (C-1'), 114.9 (C-2'), 145.1 (C-3'), 145.5 (C-4'), 115.6 (C-5'), 118.0 (C-6'), 100.1 (C-1''), 73.3 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.8 (C-4''), 76.8 (C-5''), 61.0 (C-6''). 以上波谱数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为紫柳黄素-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **5**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 481 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 503 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 479 $[\text{M} - \text{H}]^-$, $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{13}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.71 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 7.53 (1H, dd, $J = 8.5, 1.9$ Hz, H-6'), 6.92 (1H, s, H-8), 6.89 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 5.01 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 148.0 (C-2), 136.1 (C-3), 176.6 (C-4), 152.0 (C-5), 130.1 (C-6), 148.6 (C-7), 94.0 (C-8), 148.2 (C-9), 105.6 (C-10), 122.5 (C-1'), 115.8 (C-2'), 145.5 (C-3'), 145.8 (C-4'), 116.0 (C-5'), 120.4 (C-6'), 101.4 (C-1''), 73.6 (C-2''), 77.7 (C-3''), 70.1 (C-4''), 76.2 (C-5''), 61.1 (C-6''). 以上波谱数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为栎草亭-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **6**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 665 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 641 $[\text{M} - \text{H}]^-$, $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{O}_{16}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.72 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.61 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 7.43 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7'''), 6.82 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.82 (1H, s, H-6), 6.73 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'''), 6.56 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6'''), 6.52 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'''), 6.18 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8'''), 5.08 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.65 (1H, dd, $J = 11.9, 2.4$ Hz, H-6''a), 4.33 (1H, dd, $J = 11.9, 7.2$ Hz, H-6''b), 3.86 (1H, m, H-3''), 3.62 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4''), 3.57 (1H, t, $J = 8.9$ Hz, H-5''), 3.46 (1H, t, $J = 9.1$ Hz, H-2''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 148.9 (C-2), 137.3 (C-3), 177.5 (C-4), 152.7 (C-5), 95.0 (C-6), 150.3 (C-7), 130.9 (C-8), 147.0 (C-9), 106.7 (C-10), 124.1 (C-1'), 116.2 (C-2'), 146.1 (C-3'), 149.0 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.9 (C-6'), 102.1 (Glu-C-1''), 74.6 (Glu-C-2''), 75.6 (Glu-C-3''), 72.1 (Glu-C-4''), 77.4 (Glu-C-5''), 64.6 (Glu-C-6''), 127.4 (C-1''), 115.7 (C-2''), 146.5 (C-3''), 149.4 (C-4''), 116.5 (C-5''), 122.3

(C-6'''), 147.6 (C-7'''), 114.5 (C-8'''), 169.1 (C-9''')。以上波谱数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为 gossypetin-5-*O*-(6''-(*E*)-caffeoyl)- β -*D*-glucoside。

化合物 **7**: 橙黄色粉末, C₂₁H₂₂O₁₀。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 8.03 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-6'), 7.76 (1H, d, J = 15.2 Hz, H- β), 7.56 (1H, d, J = 15.2 Hz, H- α), 7.20 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2), 7.12 (1H, dd, J = 8.2, 1.9 Hz, H-6), 6.82 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.69 (1H, dd, J = 9.0, 2.4 Hz, H-5'), 6.62 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 5.03 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-1''), 3.91 (1H, dd, J = 12.2, 2.2 Hz, H-6''a), 3.72 (1H, dd, J = 12.2, 5.5 Hz, H-6''b), 3.62~3.46 (4H, m, H-2''~5''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 126.9 (C-1), 115.2 (C-2), 145.5 (C-3), 148.8 (C-4), 115.2 (C-5), 122.4 (C-6), 114.5 (C-1'), 165.4 (C-2'), 103.8 (C-3'), 163.7 (C-4'), 107.9 (C-5'), 131.5 (C-6'), 116.7 (C- α), 145.5 (C- β), 192.5 (C=O), 99.9 (Glu-C-1''), 73.3 (Glu-C-2''), 76.9 (Glu-C-3''), 69.8 (Glu-C-4''), 76.5 (Glu-C-5''), 61.0 (Glu-C-6'')。以上波谱数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为紫柳因-4'-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **8**: 淡黄色粉末, C₂₁H₂₀O₁₂。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.74 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.64 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.72 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.44 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.05 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-1''), 3.95 (1H, dd, J = 12.1, 2.1 Hz, H-6''a), 3.73 (1H, dd, J = 12.1, 5.8 Hz, H-6''b), 3.49~3.56 (3H, m, H-3''~5''), 3.41 (1H, t, J = 9.1 Hz, H-2''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 147.6 (C-2), 136.2 (C-3), 176.1 (C-4), 160.8 (C-5), 98.8 (C-6), 163.1 (C-7), 94.2 (C-8), 156.3 (C-9), 104.9 (C-10), 122.6 (C-1'), 114.8 (C-2'), 144.8 (C-3'), 147.4 (C-4'), 114.7 (C-5'), 120.5 (C-6'), 100.3 (Glu-C-1''), 73.4 (Glu-C-2''), 76.5 (Glu-C-3''), 69.9 (Glu-C-4''), 77.0 (Glu-C-5''), 61.1 (Glu-C-6'')。以上波谱数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **8** 为槲皮素-7-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 淡黄色粉末, C₂₁H₂₀O₁₁。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.49 (1H, s, H-2'), 7.33 (1H, dd, J = 8.3, 1.6 Hz, H-6'), 6.85 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), 7.17 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 7.05 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 6.70 (1H, s, H-3), 4.93 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 154.7 (C-2), 112.6 (C-3), 182.9 (C-4), 125.3 (C-5), 113.3 (C-6), 152.8 (C-7), 133.5

(C-8), 148.9 (C-9), 117.6 (C-10), 123.8 (C-1'), 114.4 (C-2'), 146.1 (C-3'), 145.9 (C-4'), 116.5 (C-5'), 118.7 (C-6'), 102.2 (Glu-C-1''), 73.7 (Glu-C-2''), 76.3 (Glu-C-3''), 70.1 (Glu-C-4''), 77.8 (Glu-C-5''), 61.1 (Glu-C-6'')。以上波谱数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **9** 为 8,3',4'-三羟基黄酮-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色粉末, C₂₁H₂₂O₁₁。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.77 (1H, d, J = 15.3 Hz, H- β), 7.63 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-6'), 7.56 (1H, d, J = 15.3 Hz, H- α), 7.20 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 7.13 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 6.85 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-5'), 6.82 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 4.98 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 3.92 (1H, dd, J = 12.0, 2.0 Hz, H-6''a), 3.72 (1H, dd, J = 12.1, 5.6 Hz, H-6''b), 3.41~3.57 (4H, m, H-2''~5''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 128.3 (C-1), 115.9 (C-2), 147.0 (C-3), 150.3 (C-4), 116.7 (C-5), 124.0 (C-6), 194.7 (C=O), 118.2 (C- α), 147.0 (C- β), 117.4 (C-1'), 153.9 (C-2'), 135.9 (C-3'), 151.7 (C-4'), 108.1 (C-5'), 122.6 (C-6'), 102.7 (Glu-C-1''), 74.8 (Glu-C-2''), 78.5 (Glu-C-3''), 71.3 (Glu-C-4''), 77.6 (Glu-C-5''), 62.5 (Glu-C-6'')。以上波谱数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **10** 为奥卡宁-4'-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **11**: 黄色粉末, C₁₅H₁₂O₆。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.16 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-5), 6.92 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'), 6.79 (1H, dd, J = 8.1, 2.1 Hz, H-6'), 6.74 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.50 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-6), 5.37 (1H, dd, J = 12.1, 2.9 Hz, H-2), 3.02 (1H, dd, J = 16.8, 12.1 Hz, H-3a), 2.64 (1H, dd, J = 16.8, 2.9 Hz, H-3b); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 79.0 (C-2), 43.4 (C-3), 190.6 (C-4), 117.2 (C-5), 109.5 (C-6), 152.2 (C-7), 132.8 (C-8), 151.1 (C-9), 114.3 (C-10), 130.0 (C-1'), 114.2 (C-2'), 145.0 (C-3'), 145.4 (C-4'), 115.1 (C-5'), 117.8 (C-6')。以上波谱数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **11** 为异奥卡宁。

化合物 **12**: 红棕色粉末, C₁₅H₁₂O₆。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.18 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 7.11 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 6.82 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.47 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-5'), 7.54 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-6'), 7.52 (1H, J = 15.3 Hz, H- α), 7.72 (1H, d, J = 15.3 Hz, H- β); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 127.0 (C-1), 114.4 (C-2), 145.5 (C-3), 148.6 (C-4), 115.2 (C-5), 122.2 (C-6), 121.8 (C- α), 144.6 (C- β), 192.7 (C=O), 113.7 (C-1'), 153.0 (C-2'), 132.4 (C-3'), 151.9 (C-4'),

107.1 (C-5'), 117.0 (C-6')。以上波谱数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **12** 为奥卡宁。

化合物 **13**: 黄色粉末, C₁₅H₁₀O₈。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.50 (1H, s, H-8), 7.73 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.62 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 146.7 (C-2), 135.5 (C-3), 176.0 (C-4), 145.4 (C-5), 128.3 (C-6), 153.2 (C-7), 92.9 (C-8), 149.7 (C-9), 103.4 (C-10), 123.0 (C-1'), 114.6 (C-2'), 144.8 (C-3'), 147.3 (C-4'), 114.8 (C-5'), 120.2 (C-6')。以上波谱数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **13** 为栎草亭。

3.2 抗炎活性化合物筛选

3.2.1 对 RAW264.7 细胞活力的影响 通过 MTT 法检测各受试化合物对 5.0 $\mu\text{g/mL}$ LPS 诱导作用下 RAW264.7 细胞活力的影响。实验中对各单体化合物受试物的测试分别设置了 6 个浓度梯度 (3.125、6.25、12.5、25、50、100 $\mu\text{mol/L}$)。不同浓度的化合物 **1~7** 作用于 RAW264.7 细胞后, 细胞活力都在 80% 以上; 化合物 **8~12** 在作用浓度大于 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞活力降低并呈现浓度相关性, 且下降幅度较大。最终选择 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 作为单体化合物的受试浓度。

3.2.2 对 RAW264.7 炎症模型细胞 NO 生成的影响 将 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 的不同单体化合物与 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS 共同作用于 RAW264.7 细胞共孵育 24 h, Griess 法检测细胞培养液中 NO 含量。结果 (图 1) 发现,

5.0 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度的 LPS 处理组与对照组相比, NO 含量显著升高; 化合物 **4~6**、**9**、**11**、**12** 处理后, 对 RAW264.7 细胞 NO 的生成具有明显抑制作用。因此, 筛选出的抗炎活性化合物为化合物 **4**、**5**、**6**、**9**、**11**、**12**, 它们对炎症反应中 NO 释放具有一定的抑制作用。

4 讨论

本研究通过对昆仑雪菊花醋酸乙酯萃取相化学成分进行分离和鉴定, 得到 13 个黄酮类单体化合物, 其中化合物 **1**、**2**、**6** 和 **13** 为首次从金鸡菊属中分离得到。此外, 通过 RAW264.7 细胞实验筛选出抗炎活性化合物 **4~6**、**9**、**11**、**12**, 这些化合物对炎症模型细胞一氧化氮产生有明显的抑制作用, 能够抑制炎症的发生发展。此项研究结果可为昆仑雪菊资源的合理开发利用提供一定的理论基础。

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辑委员会. 中国植物志(第七十五卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 365.
- [2] 喀什市史志编纂委员会办公室. 喀什市年鉴 [M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2014: 2.
- [3] 谢靖雯. 雪菊黄酮类化学成分及品质评价研究 [M]. 西安: 陕西师范大学, 2018: 1.
- [4] 潘英妮, 李宁, 倪慧, 等. 金鸡菊属植物化学成分和药理活性研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2012, 27(5): 512-518.
- [5] Pan J Y, Zhang S, Yan L S, *et al*. Separation of flavanone enantiomers and flavanone glucoside diastereomers from *Balanophora involucrata* Hook. f. by capillary electrophoresis and reversed-phase high-performance liquid chromatography on a C₁₈ column [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1185(1): 117-129.
- [6] 张辰蕊. 两种金花茶花的化学成分及活性研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2024.
- [7] 晁利平, 陈秋, 石萍萍, 等. 蜀葵花中二氢黄酮类成分的分离与结构鉴定 [J]. 天津中医药大学学报, 2015, 34(4): 233-236.
- [8] 赵桂琴, 毛晓霞, 苏占辉. 素馨花中黄酮苷类化学成分研究 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(7): 791-794.
- [9] 赵军, 孙玉华, 徐芳, 等. 昆仑雪菊黄酮类成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(1): 50-52.
- [10] Wang C F, Yang R, Song L, *et al*. Two new highly-oxygenated flavonoid glycosides from *Eupatorium*

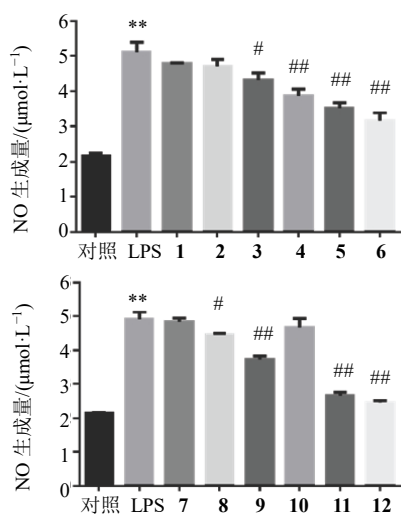


图 1 化合物对 RAW 264.7 炎症模型细胞 NO 生成的影响

Fig. 1 Effects of compounds on NO production in RAW 264.7 modle cells

- adenophorum* Spreng [J]. *Phytochem Lett*, 2016, 16: 245-248.
- [11] Zhu N, Li X W, Liu GY, *et al.* Constituents from aerial parts of *Bidens ceruna* L. and their DPPH radical scavenging activity [J]. *Chem Res Chin Universities*, 2009, 25(3): 328-331.
- [12] 蒋海强, 王建平, 刘玉红, 等. 鬼针草化学成分的分离和鉴定 [J]. *食品与药品*, 2008, 10(9): 15-17.
- [13] Yang X W, Huang M Z, Jin Y S, *et al.* Phenolics from *Bidens bipinnata* and their amylase inhibitory properties [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83(7): 1169-1175.
- [14] Hoffmann B, Hölzl J. New chalcones from *Bidens pilosa* [J]. *Planta Med*, 1988, 54(1): 52-54.
- [15] 王晓宇. 鬼针草总黄酮第Ⅲ部分化学成分分离、纯化、鉴定及其活性研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2014.
- [16] 刘华, 靳永亮, 张纪越, 等. 毛梗豨薟乙酸乙酯部位化学成分及生物活性研究 [J]. *广西植物*, 2020, 40(12): 1699-1705.
- [17] 黄帅. 万寿菊花中生物活性成分的研究 [D]. 重庆: 西南交通大学, 2007.

[责任编辑 王文倩]