

艾纳香中的黄酮类化合物及其抗氧化与 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

胡永^{1,2},李亚男^{1,2},李霞³,郝小江^{1,2},杨万霞^{1,2*},顾玮^{1,2*}

¹贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室;

²贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室,贵阳 550014;³贵州宏宇药业有限公司,贵阳 550018

摘要: 本文对艾纳香 *Blumea balsamifera* DC. 叶中的黄酮类成分及其抗氧化与 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行了研究。从艾纳香叶中分离得到 9 个黄酮类化合物,分别鉴定为:4'-甲氧基二氢槲皮素(1),槲柳黄素(2),3,3'-二甲氧基槲皮素(3),7,4'-二甲氧基二氢槲皮素(4),(2 α ,3 β)-二氢鼠李素(5),艾纳香素(6),sterubin(7),enodicytol(8),二氢槲皮素(9)。化合物 3,5,8 为首次从艾纳香中分离得到。分别用 DPPH 法和 PNPG 法筛选化合物的抗氧化活性及 α -葡萄糖苷酶抑制活性。结果表明化合物 2,5~9 表现出强抗氧化活性;化合物 1~3,5,9 表现出较高的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。该结果为艾纳香的品质评价和深度开发利用提供了理论依据。

关键词: 艾纳香;黄酮;抗氧化活性; α -葡萄糖苷酶抑制活性

中图分类号:R914.4

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.11.008

Study on the Flavonoids in *Blumea balsamifera* DC. and Their Antioxidant Activity as well as α -Glucosidase Inhibitory Activity

HU Yong^{1,2}, LI Ya-nan^{1,2}, LI Xia³, HAO Xiao-jiang^{1,2}, YANG Wan-xia^{1,2*}, GU Wei^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University;

²The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and

Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China;

³Guizhou Hongyu Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550018, China

Abstract: The study was focus on the flavonoids of *Blumea balsamifera* DC. and their bioactivities. The compounds of *B. balsamifera* were isolated and purified with various chromatographic techniques, nine flavonoids were isolated from the leaves of *B. balsamifera*, their structures were identified as dihydroquercetin-4'-methyl ether (1), tamarixetin (2), 3,3'-di-O-methylquercetin (3), dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether (4), (2 α ,3 β)-dihydrohamnetin (5), blumeatin (6), sterubin (7), enodicytol (8), dihydroquercetin (9), respectively. Compounds 3,5 and 8 were isolated from this plant for the first time. DPPH radical scavenging method was used to evaluate antioxidant activity, and PNPG method was used to determine α -glucosidase inhibitory activity of these compounds. The results indicated that compound 2 and 5-9 showed strong antioxidant activities; and compounds 1-3,5 and 9 displayed stronger inhibitory activities than the positive control of acarbose. The results provided a theoretical basis for the quality evaluation and deep development and utilization of *B. balsamifera*.

Key words: *Blumea balsamifera* DC.; flavonoids; antioxidant activity; α -glucosidase inhibitory activity

艾纳香 *Blumea balsamifera* DC. 是菊科艾纳香属多年生草本植物,别名大风艾、冰片艾等,产于贵州、广西、广东、海南等地^[1]。具有温中活血,调经,祛风湿之功效,用于治疗肿胀,筋骨疼痛,跌打刀伤和

高血压等,并对产后浮肿,阴疮等症亦有较好的疗效^[2]。从艾纳香中提取的天然“艾片”及精油在医药产业中已经得到广泛应用。黄酮类化合物是艾纳香中的主要成分,迄今为止,从艾纳香中报道的黄酮类成分已有 20 余种^[3-7],一些黄酮化合物被证明有良好的抗氧化活性,是医药、食品、化妆品中很有前景的一类天然抗氧化剂^[8],但在应用中仍旧没有引起重视。目前对于艾纳香中黄酮类成分的 α -葡萄

收稿日期:2018-06-12 接受日期:2018-09-13

基金项目:贵州省科技计划(黔科合支撑[2018]2799号);国家自然科学基金(31600280);贵州省自然科学基金(黔科合J字[2015]2105号);黔科合平台人才2017-5737

*通信作者 Tel:86-871-63804492;E-mail:guwei@mail.kib.ac.cn

糖苷酶抑制活性鲜有报道。为了进一步寻找艾纳香中抗氧化和抑制 α -葡萄糖苷酶的活性成分,本研究运用硅胶、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱技术以及 HPLC 等手段从艾纳香叶中分离了 9 个黄酮类化合物,分别鉴定为:4'-甲氧基二氢槲皮素(Dihydroquercetin-4'-methyl ether, **1**), 怪柳黄素(Tamarixetin, **2**), 3,3'-二甲氧基槲皮素(3,3'-di-O-methyl-quercetin, **3**), 7,4'-二甲氧基二氢槲皮素(Dihydroquercetin-7,4'-dimethyl ether, **4**), (2α , 3β)-二氢鼠李素($(2\alpha, 3\beta)$ -Dihydrohamnetin, **5**), 艾纳香素(Blumeatin, **6**), Sterubin(**7**), Enodicytol(**8**), 二氢槲皮素(Dihydroquercetin, **9**), 并分别运用 DPPH 法和 PNPG 法筛选了化合物的抗氧化活性和 α -葡萄糖苷酶抑制活性,旨在筛选艾纳香中天然抗氧化、降血糖的活性成分,以期艾纳香的综合开发与利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

EYELA N-1100 旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社,日本);BioTek Epoch 全波长酶标仪(BioTek 公司,美国);日立 Primaide HPLC(日立高新技术集团,日本);Bruker Avance III 400 MHz 核磁共振波谱仪(Bruker 公司,瑞士;TMS 为内标);API QSTAR Pulsari 质谱仪(赛默飞公司,美国);硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工厂,中国);RP-18(富士硅化学株式会社,日本;40~63 μm);Sephadex LH-20(Pharmacia 公司,美国;25~100 μm);1,1-二苯基苦基苯肼(思域化工,中国);4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(东京化成工业株式会社,日本);阿卡波糖(上海源叶生物科技有限公司,日本); α -葡萄糖苷酶(sigma 公司,美国);Na₂CO₃、二甲基亚砜均为分析纯。

艾纳香鲜叶样品于 2015 年 9 月由贵州宏宇药业有限公司提供,由省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室,贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室顾玮副研究员鉴定为艾纳香(*B. balsamifera*)叶。凭证标本(No. LPANX-1)保存在贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 黄酮类化合物提取和分离

干燥艾纳香叶片 15 kg,粉碎后用体积分数为 70% 乙醇加热回流提取四次,每次 4 h,合并滤液,减压回收溶剂,浓缩得浸膏。浸膏加适量的水混悬后,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。乙酸乙酯部

位(177 g)经 40~80 目硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯(20:1~5:1)及氯仿-甲醇(20:1~0:1)梯度洗脱,得 8 个组分(Fr. 1-Fr. 8)。Fr. 3 经 RP-18 反相硅胶柱,以甲醇-水(20%~100%)梯度洗脱,得到 9 个组分(Fr. 3.1-Fr. 3.9)。Fr. 3.5 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析得到化合物 **1**(4.8 g)、**2**(1.5 g)、**8**(69 mg),Fr. 3.6 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析得到 9 个组分(Fr. 3.6.1-Fr. 3.6.9),Fr. 3.6.1 经正相硅胶(300~400 目)柱层析,氯仿:丙酮(40:1~0:1)洗脱得到化合物 **3**(82 mg)、**5**(53 mg);Fr. 2 经 RP-18 反相硅胶柱,以甲醇-水(40%~100%)梯度洗脱,得到 7 个组分(Fr. 2.1-Fr. 2.7),Fr. 2.6 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析得到化合物 **4**(98 mg)、**6**(125 mg)和 **7**(78 mg),Fr. 4 经 RP-18 反相硅胶柱,以甲醇-水(20%~100%)梯度洗脱,得到 9 个组分(Fr. 4.1-Fr. 4.9),Fr. 4.3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析,正相硅胶(300~400 目)柱层析,及半制备 RP-HPLC(Agilent ZORBAX SB-C₁₈, 9.4 \times 250 mm, 2 mL/min, MeOH:H₂O=40:60, t_R =16.5 min)得到化合物 **9**(17 mg)。

1.2.2 DPPH 自由基清除能力筛选

本实验参考 Fazilatun Nessa 等^[9]的 DPPH 法并加以改进,以甲醇为溶剂,将 DPPH 配置成 0.15 mmol/L 的工作液,样品配置为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 样品溶液,于 96 孔板中将 40 μL DPPH 工作液加入 160 μL 样品溶液中,震荡混匀,室温下避光放置 20 min,于 517 nm 下测定吸光值 A_1 ,甲醇代替 DPPH 工作液扣除样品溶液的本底吸收,吸光值为 A_2 ,用相同体积的甲醇替代样品溶液作为阴性对照,吸光值为 A_0 ,同时用 Vc 作为阳性对照组,计算公式为:清除率 = $[A_0 - (A_1 - A_2)]/A_0 \times 100\%$ 。每份样品重复 3 次,取平均值,计算清除率,初筛浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,对初筛清除率大于 50% 的化合物进行复筛,计算出半数有效浓度(IC₅₀)。

1.2.3 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选

本实验参考 Chen ZB 等^[10]的 PNPG 法并加以改进,设置实验组:将 10 μL 待测样品溶液、70 μL PBS 溶液、20 μL 0.5 U/mL α -葡萄糖苷酶溶液在 96 孔板中混合,并于 37 $^\circ\text{C}$ 恒温箱中孵育 15 min,后将各孔中加入 20 μL 2.5 mmol/L 的 4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(PNPG)溶液,继续孵育 30 min 后加入 0.2 mol/L 的 Na₂CO₃ 终止液 80 μL ,于 405 nm 波长下测量 OD 值(A)。用 DMSO-PBS 溶液替代样品

溶液作为阴性对照,测量 OD 值(B);将实验组与阴性对照中 α -葡萄糖苷酶溶液用 PBS 溶液替代,分别作为背景对照组(A_0)和空白对照组(B_0),同时用 5 mg/mL 阿卡波糖溶液作为阳性对照组。计算公式:抑制率 = $[(B - B_0) - (A - A_0)] / (B - B_0) \times 100\%$ 。每份样品重复 3 次,计算抑制率,初筛样品反应终浓度为 250 $\mu\text{g/mL}$,对初筛抑制率大于 50% 的化合物进行复筛,计算半数有效浓度(IC_{50})。

2 结果与分析

2.1 化合物结构鉴定

化合物 1 白色固体(甲醇);mp. 175 ~ 177 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS: m/z 317 $[\text{M-H}]^-$,分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_7$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.85 (1H, s, 5-OH), 6.93 (1H, br s, H-2'), 6.92 (1H, br s, H-5'), 6.89 (1H, m, H-6'), 5.91 (1H, m, H-8), 5.87 (1H, m, H-6), 5.00 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-2), 4.51 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-3), 3.78 (3H, s, 4'-OCH₃); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 198.0 (C-4), 167.3 (C-7), 163.8 (C-5), 163.0 (C-9), 148.5 (C-2'), 146.6 (C-5'), 130.0 (C-1'), 120.0 (C-3'), 115.4 (C-4'), 112.1 (C-6'), 100.9 (C-10), 96.6 (C-6), 95.6 (C-8), 83.4 (C-2), 72.1 (C-3), 56.1 (4'-OCH₃)。以上数据与文献^[6]对照基本一致,鉴定该化合物为 4'-甲氧基二氢槲皮素。

化合物 2 白色针晶(甲醇);mp. 261 ~ 263 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS: m/z 315 $[\text{M-H}]^-$,分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.46 (1H, s, 5-OH), 10.81 (1H, s, 7-OH), 9.47 (1H, s, 3'-OH), 9.35 (1H, s, 3-OH), 7.67 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6'), 7.65 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-8), 7.07 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5'), 6.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.84 (3H, s, 4'-OCH₃); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.0 (C-4), 164.0 (C-7), 160.8 (C-9), 156.2 (C-5), 149.4 (C-4'), 146.3 (C-2), 146.2 (C-3'), 136.2 (C-3), 123.5 (C-1'), 119.8 (C-6'), 114.6 (C-2'), 111.8 (C-5'), 103.1 (C-10), 98.3 (C-6), 93.5 (C-8), 55.6 (4'-OCH₃)。以上数据与文献^[4]对照基本一致,鉴定该化合物为怪柳黄素。

化合物 3 黄色针晶(甲醇);mp. 210 ~ 212 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS: m/z 329 $[\text{M-H}]^-$,分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.66 (1H, s, 5-OH), 7.53

(1H, br s, H-6'), 7.09 (1H, dd, $J = 5.6, 7.6$ Hz, H-5'), 6.42 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.78 (3H, s, 3-OCH₃); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.9 (C-4), 164.2 (C-7), 161.3 (C-5), 156.4 (C-9), 155.3 (C-4'), 150.2 (C-2), 146.4 (C-3'), 138.0 (C-3), 122.3 (C-1'), 120.3 (C-6'), 115.0 (C-5'), 111.9 (C-2'), 104.3 (C-10), 98.6 (C-6), 93.7 (C-8), 59.8 (3-OCH₃), 55.6 (3'-OCH₃)。以上数据与文献^[11]对照基本一致,鉴定该化合物为 3,3'-二甲氧基槲皮素。

化合物 4 白色粉末(甲醇);mp. 165 ~ 167 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS: m/z 331 $[\text{M-H}]^-$,分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_7$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.87 (1H, s, 5-OH), 9.07 (1H, s, 3'-OH), 6.94 (1H, br s, H-5'), 6.92 (1H, s, H-2'), 6.89 (1H, dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, H-6'), 6.11 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.09 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.85 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, 3-OH), 5.08 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-2), 4.58 (1H, dd, $J = 11.5, 6.5$ Hz, H-3), 3.79 (3H, s, 7-OCH₃), 3.78 (3H, s, 4'-OCH₃); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 198.4 (C-4), 167.6 (C-7), 163.1 (C-5), 162.5 (C-9), 148.0 (C-4'), 146.2 (C-3'), 129.6 (C-1'), 119.3 (C-6'), 115.1 (C-2'), 111.7 (C-5'), 101.4 (C-10), 94.9 (C-6), 93.9 (C-8), 83.0 (C-2), 71.7 (C-3), 56.0 (7-OCH₃), 55.7 (4'-OCH₃)。以上数据与文献^[9]对照基本一致,鉴定该化合物为 7,4'-二甲氧基二氢槲皮素。

化合物 5 黄色粉末(甲醇);mp. 210 ~ 212 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS: m/z 317 $[\text{M-H}]^-$,分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_7$; $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.98 (1H, s, H-2'), 6.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 6.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.06 (1H, s, H-8), 6.02 (1H, s, H-6), 4.54 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-3), 3.80 (3H, s, -OCH₃); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 198.9 (C-4), 169.8 (C-7), 165.0 (C-5), 164.3 (C-9), 147.1 (C-3'), 146.3 (C-4'), 129.7 (C-1'), 120.9 (C-6'), 116.1 (C-2'), 115.9 (C-5'), 102.6 (C-10), 96.0 (C-6), 95.0 (C-8), 85.2 (C-2), 73.7 (C-3), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献^[12]对照基本一致,鉴定该化合物为 (2 α ,3 β)-二氢鼠李素。

化合物 6 白色针晶(甲醇);mp. 218 ~ 220 $^{\circ}\text{C}$, ESI-MS: m/z 301 $[\text{M-H}]^-$,分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$; $^1\text{H NMR}$

(500 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.12 (1H, s, 5-OH), 9.08 (2H, s, 3', 5'-OH), 6.92 (1H, s, H-4'), 6.77 (2H, t, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.08 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 6.06 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6), 5.40 (1H, dd, $J = 12.5, 2.5$ Hz, H-2), 3.77 (3H, s, 7-OCH₃), 3.22 (1H, m, H-3b), 2.72 (1H, dd, $J = 17.0, 2.5$ Hz, H-3a); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.0 (C-4), 167.5 (C-7), 163.2 (C-5), 162.9 (C-9), 145.9 (C-3' or 5'), 145.3 (C-5' or 3'), 129.4 (C-1'), 118.1 (C-4'), 115.5 (C-6'), 114.5 (C-2'), 102.7 (C-10), 94.7 (C-6), 93.9 (C-8), 78.8 (C-2), 55.9 (7-OCH₃), 42.2 (C-3)。以上数据与文献^[9]对照基本一致, 鉴定该化合物为艾纳香素。

化合物 7 白色针晶(甲醇); ESI-MS: m/z 301 [M-H]⁻, 分子式 C₁₆H₁₄O₆; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.92 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2'), 6.79 (2H, m, H-6', 5'), 6.05 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-6), 6.03 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-8), 5.31 (1H, dd, $J = 12.5, 3.0$ Hz, H-2), 3.80 (3H, s, -OCH₃), 3.10 (1H, dd, $J = 17.5, 13.0$ Hz, H-3), 2.73 (1H, dd, $J = 17.0, 3.0$ Hz, H-3); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 198.2 (C-4), 169.5 (C-7), 165.3 (C-5), 164.7 (C-9), 147.0 (C-4'), 146.5 (C-3'), 131.6 (C-1'), 119.3 (C-6'), 116.3 (C-5'), 114.7 (C-2'), 104.1 (C-10), 95.7 (C-8), 94.9 (C-6), 80.7 (C-2), 56.3 (-OCH₃), 44.1 (C-3)。以上数据与文献^[13]对照基本一致, 鉴定该化合物为 Sterubin。

化合物 8 白色粉末(甲醇); mp. 267 ~ 268 °C, ESI-MS: m/z 287 [M-H]⁻, 分子式 C₁₅H₁₂O₆; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.1 (1H, s, 5-OH), 6.88 (1H, s, H-6'), 6.75 (1H, br s, H-5'), 5.88 (2H, s, H-6, 8), 5.37 (1H, dd, $J = 15.2, 2.8$ Hz, H-2), 3.17 (1H, m, H-3 α), 2.68 (1H, dd, $J = 16.8, 2.8$ Hz, H-3 β); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 196.4 (C-4), 166.7 (C-7), 163.5 (C-9), 162.9 (C-5), 145.8 (C-4'), 145.2 (C-3'), 129.5 (C-1'), 118.0 (C-6'), 115.4 (C-5'), 114.4 (C-2'), 101.8 (C-10), 95.8 (C-6), 95.0 (C-8), 78.5 (C-2), 42.1 (C-3)。以上数据与文献^[14]对照基本一致, 鉴定该化合物为 Enodicytol。

化合物 9 黄色粉末(甲醇); mp. 222 ~ 223 °C, ESI-MS: m/z 303 [M-H]⁻, 分子式 C₁₅H₁₂O₇; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.96 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-

2'), 6.84 (1H, dd, $J = 8.2, 1.7$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, m, H-5'), 5.92 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 5.88 (1H, s, H-6), 4.50 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-3); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 198.4 (C-4), 168.7 (C-7), 165.3 (C-5), 164.5 (C-9), 147.1 (C-4'), 146.3 (C-3'), 129.8 (C-1'), 120.9 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.9 (C-2'), 101.8 (C-10), 97.3 (C-6), 96.3 (C-8), 85.1 (C-2), 73.7 (C-3)。以上数据与文献^[15]对照基本一致, 鉴定该化合物为二氢槲皮素。

2.2 化合物抗氧化活性筛选

用 DPPH 方法对艾纳香叶中分离得到的 9 个黄酮类化合物进行了体外抗氧化活性的筛选, 从表 2 可以看出, 化合物 2、5 ~ 9 在 100 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度下初筛抑制率均与阳性对照药维生素 C 相当, 表现出较好的 DPPH 自由基清除能力。进一步测定这几个化合物的 IC₅₀, 结果表明, 化合物 2 的抗氧化活性最

Table 1 Screening of DPPH radical scavenging antioxidant activity $\bar{x} \pm s$ ($n = 3$)

化合物 Compounds	清除率 Scavenge rate (100 $\mu\text{g/mL}$) (%)	是否复筛 Second- screening	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
1	42.31%	N	-
2	96.05%	Y	0.88 \pm 0.05
3	33.27%	N	-
4	33.33%	N	-
5	93.76%	Y	1.94 \pm 0.03
6	95.60%	Y	1.02 \pm 0.02
7	95.60%	Y	0.79 \pm 0.00
8	94.92%	Y	0.89 \pm 0.03
9	93.18%	Y	1.03 \pm 0.02
V _C	97.95%	Y	0.60 \pm 0.00

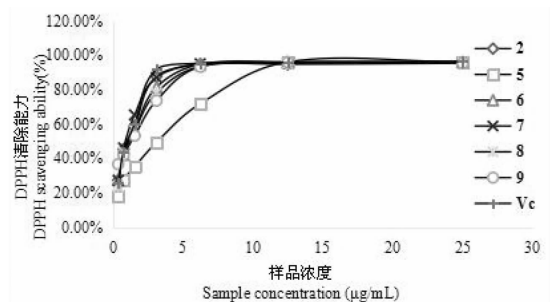


图 1 不同浓度样品对 DPPH 清除能力的影响

Fig. 1 Effects of different concentration samples on DPPH radical scavenging antioxidant activity

高,其 $IC_{50} = 0.88 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$,与阳性药维生素 C 的 $IC_{50}(0.60 \pm 0.00 \mu\text{g/mL})$ 值相当。化合物不同质量浓度对 DPPH 自由基清除活性的影响如图 1 所示,化合物 2、5~9 对 DPPH 自由基清除能力均与浓度成正的量效关系,表明其抗氧化活性随着化合物质量浓度的提高而增强。

2.3 化合物 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选

用 PNPG 法对艾纳香叶中分离得到的 9 个黄酮类化合物进行了体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性的筛选,结果如表 3 所示。化合物 1~3、5、9 在 $250 \mu\text{g/mL}$ 的浓度下初筛抑制率高于阳性对照药阿卡波糖,表现出较高的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。进一步测定这几个化合物的 IC_{50} ,从结果可以看出,化合物 9 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性最高,其 IC_{50} 值为 $13.50 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$,远低于阳性药阿卡波糖 ($IC_{50} = 261.50 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$)。同时,从图 2 的结果可以看出,化合物 1~3、5、9 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性均与浓度成正的量效关系,其抑制 α -葡萄糖苷酶的活性随着化合物质量浓度的提高而增强。表明艾纳香中的黄酮类成分具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,因此,推测其在降血糖或者防治糖尿病方面有一定的开发应用潜力。

表 2 α -葡萄糖苷酶抑制活性 $\bar{x} \pm s (n=3)$

Table 2 Screening of α -Glucosidase inhibitory activity $\bar{x} \pm s (n=3)$

化合物 Compounds	抑制率 Inhibition rate (250 $\mu\text{g/mL}$) (%)	是否复筛 Second- screening	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	72.43%	Y	112.50 ± 0.01
2	82.61%	Y	28.00 ± 0.00
3	93.50%	Y	76.85 ± 0.02
4	35.32%	N	-
5	98.18%	Y	25.25 ± 0.00
6	36.05%	N	-
7	27.68%	N	-
8	3.94%	N	-
9	98.92%	Y	13.50 ± 0.01
acarbose	53.34%	Y	261.50 ± 0.16

3 结论

艾纳香多用作提取“艾片”的原料,引起消炎、抗菌、杀虫等功效显著在医药产业中广泛应用,目前,以艾纳香中的“艾片”或挥发油为原料已经有多

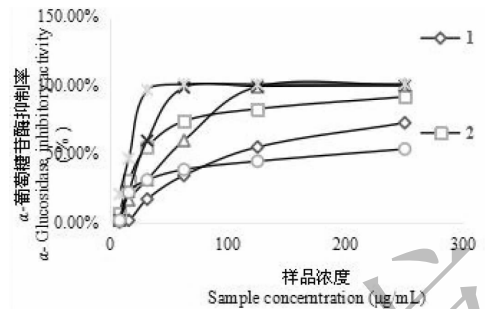


图 2 不同浓度样品对 α -葡萄糖苷酶抑制作用

Fig. 2 Effects of different concentration samples on α -glucosidase inhibitory activity

重医药或保健产品在市场上流通。艾纳香叶片提取“艾片”或挥发油后的“药渣”多被丢弃或者用作田间肥料,生物利用度很低。许多研究已经证明了黄酮类成分是艾纳香中的主要成分,在叶片中含量很高,尤其是在废弃的药渣中具有高含量的黄酮成分,且艾纳香中的黄酮类化合物具有广泛的生物活性,但一直没有得到关注。已经有报道证明了艾纳香黄酮类成分具有较高的抗氧化活性,但是其 α -葡萄糖苷酶抑制活性却鲜有研究。本实验从艾纳香叶片乙酸乙酯部分分离得到 9 个黄酮类化合物,其中化合物 3、5、8 为首次从艾纳香中分离得到。并运用 DP-PH 法对 9 个黄酮类化合物进行抗氧化活性筛选,用 PNPG 法进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选。结果显示,化合物 2、5~9 表现出较强的清除 DPPH 自由基的能力 ($IC_{50} = 0.79 \sim 1.94 \mu\text{g/mL}$,其中阳性对照 V_C 的 $IC_{50} = 0.60 \pm 0.00 \mu\text{g/mL}$);化合物 1~3、5、9 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性 ($IC_{50} = 13.50 \sim 112.50 \mu\text{g/mL}$) 均高于阳性对照阿卡波糖 ($IC_{50} = 261.50 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$),表现显著的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。提示艾纳香可能在用作降血糖药物方面有巨大的开发潜力,其降血糖药效有待进一步体内实验验证。该研究结果为艾纳香黄酮在抗氧化和降血糖功效方面的综合开发与利用提供了科学依据。尤其是为艾纳香废弃药渣再利用提供了一定的思路和方向。

参考文献

- Guan LL(官玲亮),Pang YX(庞玉新),Wang D(王丹),et al. Research progress on Chinese minority medicine of *Blumea balsamifera* L. DC. [J]. *J Plant Gene Res*(植物遗传资源学报),2012,13:695-698.
- Jiangsu New Medical College. Dictionary of Chinese materia medica(中药大辞典)[M]. Shanghai: Shanghai Scientific

- and Technical Publishers, 1977; 223.
- 3 Deng QY(邓芹英), Ding CM(丁丛梅), Zhang WH(张维汉), *et al.* Studies on the flavonoid constituents in *Blumea balsamifera* [J]. *Chin J Magn Reson* (波谱学杂志), 1994, 13: 447-452.
 - 4 Cao JX(曹家庆), Sun SW(孙淑伟), Chen H(陈欢), *et al.* Studies on flavonoids from *Blumea riparia* [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2008, 33: 782-784.
 - 5 Chen M(陈铭), Jin HZ(金慧子), Yan L(严岚), *et al.* Flavonoids from *Blumea balsamifera* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2010, 22: 991-994.
 - 6 Yan QX(严启新), Tan DP(谭道鹏), Kang H(康晖), *et al.* Study on flavonoids constituents of *Blumea balsamifera* [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18: 86-89.
 - 7 Wei RB(韦睿斌), Pang YX(庞玉新), Yang Q(杨全), *et al.* Advance on flavonoids in *Blumea balsamifera* DC [J]. *J Guangdong Pharm Univ* (广东药学院学报), 2014, 30: 123-126.
 - 8 Wei RB(韦睿斌), Yang Q(杨全), Pang YX(庞玉新), *et al.* A comparative study on antioxidant activity of total phenolic acid and flavonoids from different parts of *Blumea balsamifera* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2015, 27: 1242-1247.
 - 9 Nessa F, Ismail Z, Mohamed N, *et al.* Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC leaves [J]. *Food Chem*, 2004, 88: 243-252.
 - 10 Chen ZB, Hao JJ, Wang LP, *et al.* New α -glucosidase inhibitors from marine algae-derived *Streptomyces* sp. OUCMDZ-3434 [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20004.
 - 11 Wang JH, Lou JF, Luo C, *et al.* Phenolic compounds from *Halimodendron halodendron* (Pall.) Voss and their antimicrobial and antioxidant activities [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 11349-11364.
 - 12 Zhang Y(张媛), Tu PF(屠鹏飞). Chemical constituents of *Tamarix ramosissima* [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs* (中草药), 2006, 37: 1764-1768.
 - 13 Ley JP, Krammer G, Reinders G, *et al.* Evaluation of bitter masking flavanones from herb santa (*Eriodictyon californicum* (H&A.) Torr., Hydrophyllaceae) [J]. *J Agr Food Chem*, 2005, 53: 6061-6066.
 - 14 Ye G, Huang CG. Flavonoids of *Limonium aureum* [J]. *Chem Nat Compd*, 2006, 42: 232-234.
 - 15 Ni G(倪刚), Zhang QJ(张庆建), Zheng ZF(郑重飞), *et al.* Chemical constituents in stem bark of *Morus cathayana* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2010, 41: 191-195.
-
- (上接第 1889 页)
- 13 Olivieri F, Praticchizzo F, Grillari J, *et al.* Cellular senescence and inflammaging in age-related diseases [J]. *Mediators Inflamm*, 2018: 9076485.
 - 14 Simabuco FM, Morale MG, Pavan ICB, *et al.* p53 and metabolism: from mechanism to therapeutics [J]. *Oncotarget*, 2018, 9: 23780-23823.
 - 15 Roy SK, Srivastava RK, Shankar S. Inhibition of PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways causes activation of FOXO transcription factor, leading to cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer [J]. *J Mol Signal*, 2010, 5: 10.
 - 16 Martins R, Lithgow GJ, Link W. Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity [J]. *Aging Cell*, 2016, 16: 196-207.
 - 17 Baar MP, Brandt RMC, Putavet DA, *et al.* Targeted apoptosis of sebaceous cells restores tissue homeostasis in response to chemotoxicity and aging [J]. *Cell*, 2017, 169: 132-147.
 - 18 Miao J, Li X, Zhao C, *et al.* Active compounds, antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory activity of different varieties of *Chaenomeles* fruits [J]. *Food Chem*, 2018, 248: 330-339.
 - 19 Li YH(李英华), Zhu W(朱威), Hong Y(洪洋). Review on natural products as prevention and treatment agents of senile osteoporosis [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 164-171.
 - 20 Dai J, Munper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties [J]. *Molecules*, 2010, 15: 7313-7352.