

新疆千叶蓍中化学成分及其抗氧化和抗菌活性研究

李红亮^{1,2,3}, 李俊^{1,2}, 赵海清^{1,2}, 阿吉艾克拜尔·艾萨^{1,2*}¹中国科学院新疆理化技术研究所干旱区植物资源化学重点实验室;²中国科学院新疆理化技术研究所新疆特有药用资源利用省部共建国家重点实验室培育基地, 乌鲁木齐 830011; ³中国科学院大学, 北京 100049

摘要:为探究生长于新疆的千叶蓍(*Achillea millefolium* L.)中的活性物质基础,本文对采自新疆哈密地区的千叶蓍开展了化学成分分离鉴定及其生物活性研究。利用柱层析色谱、制备型高效液相色谱等方法,从千叶蓍的全草中分离出二十种化合物。通过核磁共振和质谱等波谱学技术以及和文献数据对比,将其分别鉴定为猫眼草黄素(1)、矢车菊黄素(2)、槲皮素(3)、芹素(4)、芹黄素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷(5)、(-)-芝麻素(6)、乙氧基阿魏酸(7)、咖啡酸乙酯(8)、香豆酸(9)、对羟基苯丙酸(10)、伞形花内酯(11)、7-甲氧基香豆素(12)、香草酸(13)、4-羟基苯甲酸(14)、二氢猕猴桃内酯(15)、paeoveitol B(16)、2-羟基-2-[(*E*)-1 α ,2 β ,3-三羟基-3-壬烷-5,7-二炔]-4*H*-吡喃(17)、吡啶-3-乙醛(18)、 β -谷甾醇(19)和3 β -羟基-5 α ,8 α -环二氧麦角甾-6,22-二烯麦角甾醇过氧化物(20)。其中,化合物20为首次从本植物中分离得到,化合物6、8~10、12~13、15~18为首次从本属植物中分离得到。此外,初步评估了乙醇提取物、乙酸乙酯部位和化合物1~5、8~9、13~14和16的抗氧化及其抗菌活性。化合物3(IC₅₀ = 9.9 ± 0.94 μ M)和8(IC₅₀ = 21.29 ± 1.65 μ M)表现出显著的DPPH自由基清除能力,化合物9、14和16表现出抑制白色念珠菌、大肠杆菌和金黄色葡萄球菌生长的能力。本文首次报道了分布于新疆的千叶蓍中化学成分及其活性,结果表明,酚类化合物如黄酮、苯丙素是该植物中的主要成分。此外,本研究发现千叶蓍中成分表现出一定的抗氧化和抗菌活性,为该植物作的药用价值提供了一定的科学依据。

关键词:千叶蓍;黄酮;苯丙素;抗氧化活性;抗菌活性

中图分类号:R284.2;Q946

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)1-0122-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.1.019

Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of *Achillea millefolium* L.LI Hong-liang^{1,2,3}, LI Jun^{1,2}, ZHAO Hai-qing^{1,2}, Ha · AISA^{1,2*}¹Key Laboratory of Plant Resources and Chemistry in Arid Zone, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences; ²State Key Laboratory Breeding Base of Xinjiang Indigenous Medicinal Plant Resource Utilization Co-founded by Xinjiang Province and MOST, Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China;³University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: For the aim of reveal the bioactivities and corresponding chemical constituents of *Achillea millefolium* L. distributed in Xinjiang, China, investigations of isolation, structure elucidation, and bioactivity on *A. millefolium* collected from Hami region of Xinjiang were carried out. Twenty compounds were isolated from the whole plant of *A. millefolium* L by various techniques including column chromatography and semi-preparative HPLC. Their structures were identified based on spectroscopic data analysis such as NMR and MASS, together with comparison with previous data, to be centaureidin (1), chrysosplenetin (2), quercetin (3), apigenin (4), apigenin-7-*O*- β -D-glucoside (5), (-)-sesamin (6), ethoxy-ferulate (7), ethyl caffeate (8), *p*-coumaric acid (9), *p*-hydroxy benzenepropanoic acid (10), umbelliferone (11), 7-methoxy coumarin (12), vanillie

收稿日期:2018-08-06 接受日期:2018-09-13

基金项目:国家自然科学基金联合基金(U1703235);中国科学院“西部青年学者”B类项目(2015-XBQN-B-08)

* 通信作者 Tel:86-991-3835679; E-mail:haji@ms.xjb.ac.cn

acid (**13**), 4-hydroxybenzoic acid (**14**), dihydroactinidiolide (**15**), paeoveitol B (**16**), 2-hydroxyl-2-[(*E*)-1 α , 2 β , 3-trihydroxyl-3-nonaene-5, 7-diyne]-4*H*-pyran (**17**), indole-3-aldehyde (**18**), β -sitosterol (**19**), and ergosterol peroxide (**20**). Among them, compound **20** was isolated from this plant for the first time, and ten compounds (**6, 8 ~ 10, 12 ~ 13** and **15 ~ 18**) were firstly discovered from *Achillea* genus. In addition, antioxidant and antimicrobial activities of the ethanol extract, ethyl acetate fraction, and compounds **1 ~ 5, 8 ~ 9, 13 ~ 14** and **16** were also evaluated. Compounds **3** ($IC_{50} = 9.9 \pm 0.94 \mu M$) and **8** ($IC_{50} = 21.29 \pm 1.65 \mu M$) showed strong DPPH free radical scavenging capacity. Compounds **9, 14** and **16** were found to inhibit the growth of *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. This was the first report on the chemical constituent and bioactivity of *A. millefolium* growing in Xinjiang. Phenolic compounds including flavonoid and phenylpropanoid were found to be the major components in this plant. Moreover, the discovery of antioxidant and anti-microbial activities of compounds in *A. millefolium* supported the medicinal values of this plant.

Key words: *Achillea millefolium* L.; flavonoid; phenylpropanoid; antioxidant; antimicrobial

菊科薯蓣属(*Achillea*)植物包含130多种多年生草本植物,生长于具有温带气候的北半球的干旱或半干旱地区,在欧洲和亚洲比较常见^[1],我国产10种,其中新疆产6种^[2]。千叶薯作为传统的薯蓣属草药,具有多种药理学特性,如解痉,抗炎,镇痛,止血,抗肿瘤,抗氧化和抗菌活性^[3]。迄今为止,前人从千叶薯中已报道了包括倍半萜、单萜、类黄酮和酚类等几种类型的化合物^[4-8]。目前对于该植物的研究主要集中在生长于欧洲的千叶薯,对产于中国新疆的千叶薯的植化研究几乎空白,仅有一篇对其粗提物的抗菌活性的研究报告^[9]。新疆独特的地理位置和气候特点可以为其特有药用植物资源的形成提供特定的生长环境,进而产生大量结构新颖的天然产物,对于寻找新颖活性天然产物方面具有重要意义。对薯蓣属植物千叶薯成分进行深入的系统研究,不仅有利于其资源开发利用,而且可以为其药效作用物质基础研究和临床使用提供理论依据。在此,我们报道生长于我国新疆的千叶薯全草中二十种已知化合物的分离鉴定及其抗氧化和抗菌活性评价。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

R-300 EL型旋转蒸发仪(Buchi有限公司,瑞士);INOVA-400型核磁共振仪,INOVA-600型核磁共振仪(Varian公司,美国);Qtrap 4000三重四级杆质谱仪(AB SCIEX公司,美国);UltiMate 3000型分析型高效液相色谱仪,UltiMate 3000型半制备型液相色谱仪(Dionex公司,美国);HPLC分析型色谱柱:Waters XBridge™ C₁₈(4.6 × 250 mm, 5 μ m);HPLC半制备型色谱柱:Waters XBridge™ Prep C18(10 × 250 mm, 5 μ m);高效液相色谱用乙腈和甲醇(Merck公司,德国);Sephadex LH-20(GE Healthcare公司,瑞典);提取分离用石油醚、乙酸乙酯、正

丁醇、正己烷、氯仿、无水乙醇、无水甲醇等(天津市百世化工有限公司,中国;分析纯,用前重蒸)。

1.2 药材来源

实验研究对象千叶薯的全草于2016年8月采集于中国新疆哈密地区,由中国科学院新疆生态与地理研究所冯纓教授进行鉴定。其样品标本(WY01209)保存于中国科学院新疆理化技术研究所。

2 实验方法

2.1 提取与分离

将干燥的千叶薯全草(5.55 kg)粉碎后,用50 L 95%乙醇渗漉提取,依次重复四次,减压浓缩后得到提物浸膏580 g。将95%乙醇提取后的植物残渣用50 L 50%乙醇进行二次提取,步骤同上,得到50%乙醇提物浸膏266 g。经分析,95%和50%乙醇提取物中主成分相同,将二者合并,用蒸馏水进行超声分散,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取3~5次,浓缩后分别得到石油醚部位92 g,乙酸乙酯部位160 g和正丁醇部位175 g。

将乙酸乙酯层部位经硅胶柱色谱分离,以石油醚:乙酸乙酯(50:1 → 1:2)进行梯度洗脱,随后用氯仿:甲醇(100:0 → 1:5)进行梯度洗脱,合并得到24个流分F1~F24。利用重结晶方法,分别从流分F8, F2和F22中获得化合物**1**(105.0 mg)、**5**(25.1 mg)和**19**(10 mg)。流分F11和F16经过Sephadex LH-20柱层析,分别得化合物**3**(280.0 mg)和**4**(16.3 mg)。依次利用Sephadex LH-20柱层析和半制备HPLC纯化,分别从流分F1中得到化合物**2**(26.0 mg);从流分F3中得到化合物**15**(5.6 mg);从流分F4中得到化合物**6**(3.2 mg)、**7**(2.4 mg)、**12**(6.2 mg)和**18**(4.4 mg);从流分F8中得到化合物**11**(5.6 mg)、**16**(5.1 mg)和**20**(6.0 mg);从流分F9中得

到化合物 **8**(2.7 mg)、**9**(3.0 mg)、**10**(5.6 mg)、**13** (10.5 mg)、**14**(30.0 mg)和 **17**(7.2 mg)。

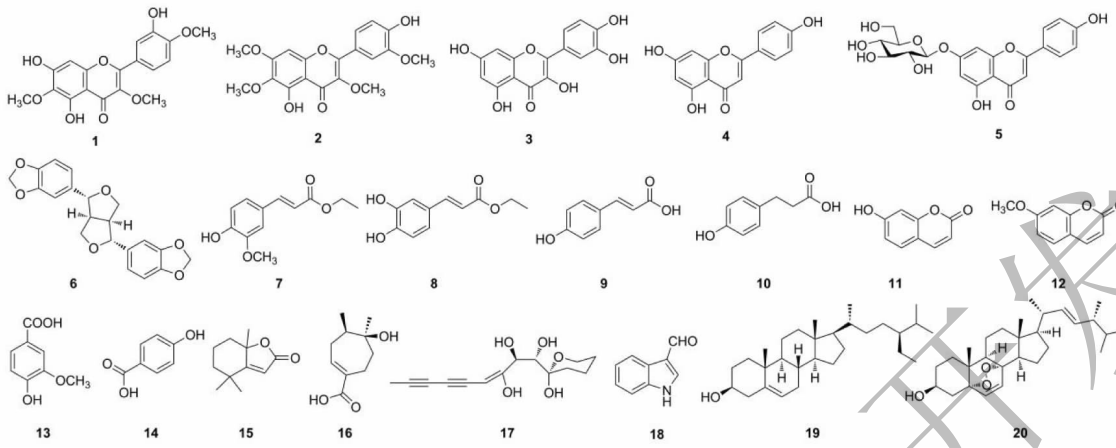


图1 化合物 1~20 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-20

2.2 抗氧化活性实验过程及方法

精密配制 2 mM 浓度的 DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯胍)溶液作为储备液待用。将样品溶解于 DMSO 溶液,配制成 50 mg/mL 或者 100 mmol/L 作为样品母液。实验过程中,将 DPPH 储备液稀释 10 倍至 2×10^{-4} mol/L 浓度,测其在 515 nm 波长下的紫外吸光(OD)值,并适当调整溶液浓度使其 OD 值约为 0.7,得到 DPPH 工作液;将样品母液逐级稀释配制成浓度梯度的样品溶液,以维生素 C 作为阳性对照;配制反应体系:取受试样品 100 μ L,及 DMSO 溶液 100 μ L,配制后充分混匀,在 96 孔板中室温避光反应 30 分钟后,用酶标仪测量各孔在 515 nm 处的光吸收值,平行测定 3 次。DPPH 清除率(%) = $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100\%$,其中, A_0 为不加样时的吸光值, A_1 为加样组的吸光值;用 IC₅₀ 软件计算:最少 3 个值,跨越 50%。

2.3 抗菌活性实验过程及方法

融化琼脂培养基,待其温度降至 46 ± 0.5 $^{\circ}$ C,加入已培养好的菌液,使试验菌悬液浓度为 5×10^5 cfu/mL ~ 5×10^6 cfu/mL,倒平皿 15 ~ 20 mL/皿,放置 20 min 使其凝固。用琼脂打孔器打孔,直径为 5 ~ 6 mm,4 ~ 5 孔/皿,均匀分布,各样片中心之间相距 25 mm 以上,与平板的周缘相距 15 mm 以上。

样品浓度为 100 mg/mL(100 mM);每孔加样品溶液 20 μ L。盖好平皿,置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱 30 ~ 60 min,使溶液完全被吸收,倒置培养 16 ~ 18 h。用游标卡尺测量抑菌圈的直径并记录。抑菌圈直径大于 7 mm 者,判为有抑菌作用。

3 实验结果

3.1 化合物结构鉴定

化合物 1 黄色块状晶体;(-) ESI-MS: m/z 359.3 [M-H]⁻,分子式为 C₁₈H₁₆O₈(理论分子量为 360.3)。¹H NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆, δ , ppm, J/Hz): 12.93 (1H, br s, 5-OH), 9.09 (1H, br s, 7-OH), 7.93 (1H, br s, 3'-OH), 7.63 (1H, d, $J = 2.4$, H-6'), 7.61 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$, H-2'), 7.07 (1H, d, $J = 8.4$, H-5'), 6.55 (1H, s, H-8), 3.90 (3H, s, 4'-OMe), 3.84 (3H, s, 6-OMe), 3.83 (3H, s, 3-OMe);¹³C NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆, δ , ppm): 180.0 (C-4), 157.8 (C-7), 156.8 (C-2), 153.7 (C-5), 153.2 (C-9), 151.0 (C-4'), 147.4 (C-3'), 139.3 (C-3), 132.0 (C-6), 124.3 (C-1'), 121.9 (C-6'), 115.9 (C-2'), 112.2 (C-5'), 106.5 (C-10), 94.6 (C-8), 60.8 (3-OMe), 60.3 (6-OMe), 56.4 (4(-OMe)。以上数据与文献^[10]报道的矢车菊黄素(centaureidin)的数据相一致。

化合物 2 黄色块状晶体;(-) ESI-MS: m/z 373.2 [M-H]⁻,分子式为 C₁₉H₁₈O₈(理论分子量为 374.3)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm, J/Hz): 12.63 (1H, br s, 5-OH), 7.67 (1H, d, $J = 2.0$, H-2'), 7.63 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$, H-6'), 6.96 (1H, d, $J = 8.4$, H-5'), 6.91 (1H, m, H-8), 3.92 (3H, s, 3-OMe), 3.87 (3H, s, 6-OMe), 3.82 (3H, s, 7-OMe), 3.73 (3H, s, 3'-OMe);¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm): 178.2 (C-4), 158.6 (C-7), 155.7 (C-2), 151.7 (C-5), 151.6 (C-9), 149.9 (C-

4'), 147.5 (C-3'), 137.7 (C-3), 131.6 (C-6), 122.3 (C-6'), 120.7 (C-1'), 115.6 (C-5'), 112.0 (C-2'), 105.6 (C-10), 60.0 (-OMe), 59.7 (-OMe), 56.5 (-OMe), 55.8 (-OMe)。以上数据与文献^[11]报道的猫眼草黄素(chrysosplenetin)的数据相一致。

化合物 3 黄色块状晶体; (-) ESI-MS: m/z 301.0 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₅H₁₀O₇ (理论分子量为 302.2)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm, J /Hz): 12.49 (1H, br s, 5-OH), 7.67 (1H, d, J = 2.0, H-2'), 7.54 (1H, dd, J = 8.4, 2.0, H-6'), 6.88 (1H, d, J = 8.4, H-5'), 6.40 (1H, d, J = 2.0, H-8), 6.18 (1H, d, J = 2.0, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm): 175.8 (C-4), 163.9 (C-7), 160.7 (C-9), 156.1 (C-5), 147.7 (C-4'), 146.8 (C-2), 145.1 (C-3'), 135.7 (C-3), 122.0 (C-1'), 120.0 (C-6'), 115.6 (C-5'), 115.7 (C-2'), 103.1 (C-10), 98.2 (C-6), 93.4 (C-8)。以上数据与文献^[12]报道的槲皮素(querletin)的数据相一致。

化合物 4 黄色固体; (-) ESI-MS: m/z 269.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₅H₁₀O₅ (理论分子量为 270.2)。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm, J /Hz): 12.96 (1H, br s, 5-OH), 10.57 (1H, br s, 4(-OH)), 7.92 (2H, d, J = 8.8, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, J = 8.4, H-3', 5'), 6.77 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, d, J = 2.0, H-8), 6.19 (1H, d, J = 2.0, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm): 181.7 (C-4), 164.1 (C-2), 163.7 (C-7), 161.4 (C-9), 161.2 (C-4'), 157.3 (C-5), 128.5 (C-2'), 128.4 (C-6'), 121.2 (C-1'), 116.0 (C-3'), 115.9 (C-5'), 103.7 (C-10), 102.8 (C-3), 98.9 (C-6), 94.0 (C-8)。以上数据与文献^[13]报道的芹黄素(apigenin)的数据相一致。

化合物 5 黄色固体; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm, J /Hz): 12.96 (1H, br s, 5-OH), 10.40 (1H, br s, 4(-OH)), 7.95 (2H, d, J = 8.8, H-2', 6'), 6.94 (2H, d, J = 8.4, H-3', 5'), 6.87 (1H, s, H-3), 6.83 (1H, d, J = 2.0, H-8), 6.44 (1H, d, J = 2.0, H-6), 5.40 (1H, d, J = 4.8, H-1''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, δ , ppm): 182.0 (C-4), 164.2 (C-7), 163.0 (C-2), 161.4 (C-4'), 161.1 (C-9), 156.9 (C-5), 128.6 (C-6'), 128.6 (C-2'), 121.0 (C-1'), 116.0 (C-3'), 116.0 (C-5'), 105.3 (C-10), 103.1 (C-3), 99.6 (C-1''), 99.4 (C-6), 94.8

(C-8), 77.2 (C-5''), 76.4 (C-3''), 73.1 (C-2''), 69.5 (C-4''), 60.6 (C-6'')。以上数据与文献^[14]报道的芹黄素-7-*O*- β -d-葡萄糖苷(apigenin-7-*O*- β -d-glucoside)的数据相一致。

化合物 6 白色针状晶体, 易溶于氯仿; 分子式为 C₂₁H₂₀O₁₀ (理论分子量为 354.4)。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, δ , ppm, J /Hz): 6.85 (2H, s, H-2', 2''), 6.80 (2H, d, J = 8.4, H-6', 6''), 6.78 (2H, d, J = 7.8, H-5', 5''), 5.95 (4H, s, 2 \times OCH₂O), 4.71 (2H, d, J = 4.2, H-2 β , 6 β), 4.23 (2H, dd, J = 9.0, 6.6, H-4 α , 8 α), 3.86 (2H, dd, J = 9.0, 3.0, H-4 β , 8 β), 3.05 (2H, s, J = 4.8, H-1 α , 5 α); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 148.1 (C-3', 3''), 147.2 (C-4', 4''), 135.2 (C-1', 1''), 119.5 (C-6', 6''), 108.3 (C-5', 5''), 106.6 (C-2', 2''), 101.2 (C-2 \times OCH₂O), 85.9 (C-2, 6), 71.8 (C-4, 8), 54.5 (C-1, 5)。以上数据与文献^[15]报道的(-)-芝麻素的数据相一致。

化合物 7 淡黄色油状, 易溶于氯仿; (-) ESI-MS: m/z 221.0 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₂H₁₄O₄ (理论分子量为 222.2)。¹H NMR (600 MHz, CDCl₃, δ , ppm, J /Hz): 7.61 (1H, m, H-7), 7.07 (1H, d, J = 8.4, H-6), 7.03 (1H, s, H-2), 6.91 (1H, d, J = 7.8, H-5), 6.30 (1H, d, J = 15.6, H-8), 4.25 (2H, q, J = 7.2, H-10), 3.92 (3H, s, 3-OCH₃), 1.33 (3H, t, J = 7.2, H₃-11); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃, δ , ppm): 167.4 (C-9), 148.0 (C-4), 146.9 (C-3), 144.8 (C-7), 127.2 (C-1), 123.2 (C-6), 115.8 (C-8), 114.8 (C-5), 109.4 (C-2), 60.5 (C-10), 56.1 (3-OCH₃), 14.5 (C-11)。以上数据与文献^[16]报道的乙氧基阿魏酸(ethoxy-ferulate)的数据相一致。

化合物 8 褐色无定形粉末, 易溶于氯仿和甲醇; (-) ESI-MS: m/z 207.0 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₁H₁₂O₄ (理论分子量为 208.2)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, δ , ppm, J /Hz): 7.46 (1H, d, J = 15.6, H-7), 6.97 (1H, d, J = 1.2, H-2), 6.87 (1H, dd, J = 8.0, 1.2, H-6), 6.71 (1H, d, J = 8.0, H-5), 6.17 (1H, d, J = 15.6, H-8), 4.13 (2H, d, J = 7.2, H₂-1'), 1.23 (3H, t, J = 7.2, H₃-2'); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD, δ , ppm): 169.3 (C-9), 149.5 (C-4), 146.7 (C-7), 146.7 (C-3), 127.7 (C-1), 122.9 (C-6), 116.5 (C-5), 115.2 (C-8), 115.1 (C-2), 61.4 (C-1'), 14.6 (C-2')。以上数据与文献^[17]报道的咖啡酸乙酯的数据相一致。

化合物 9 白色粉末,易溶于氯仿和甲醇; (+) ESI-MS: m/z 163.0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_9H_8O_3$ (理论分子量为 162.1)。 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm, J /Hz): 7.50 (1H, d, J = 15.6, H-7), 7.48 (2H, d, J = 8.4, H-2, 6), 6.78 (2H, d, J = 8.4, H-3, 5), 6.28 (1H, d, J = 15.6, H-8); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm): 168.2 (C-9), 159.5 (C-4), 143.7 (C-7), 130.0 (C-2, 6), 125.4 (C-1), 116.0 (C-3, 5), 115.7 (C-8)。以上数据与文献^[18]报道的香豆酸的数据相一致。

化合物 10 白色粉末,易溶于氯仿和甲醇; (-) ESI-MS: m/z 165.0 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_9H_{10}O_3$ (理论分子量为 166.1)。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD , δ , ppm, J /Hz): 7.05 (2H, d, J = 9.0, H-2, 6), 6.70 (2H, d, J = 8.4, H-3, 5), 2.83 (2H, t, J = 7.8, H_2-2'), 2.53 (2H, t, J = 7.8, H-1'); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD , δ , ppm): 177.8 (C-3'), 156.7 (C-4), 133.2 (C-1), 130.2 (C-2, 6), 116.2 (C-1), 37.9 (C-1'), 31.6 (C-2')。以上数据与文献^[19]报道的对羟基苯丙酸的数据相一致。

化合物 11 淡黄色固体,易溶于氯仿和甲醇; (-) ESI-MS: m/z 207.3 $[M(H+HCOOH)]^-$, 分子式为 $C_9H_6O_3$ (理论分子量为 162.1)。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm, J /Hz): 7.92 (1H, d, J = 9.6, H-4), 7.51 (1H, d, J = 8.4, H-5), 6.78 (1H, d, J = 8.4, H-6), 6.70 (1H, s, H-8), 6.19 (1H, d, J = 9.6, H-3); ^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm): 161.5 (C-7), 160.4 (C-2), 155.5 (C-9), 144.5 (C-4), 129.7 (C-5), 113.2 (C-6), 111.2 (C-3), 111.1 (C-10), 102.1 (C-8)。以上数据与文献^[20]报道的伞形花内酯的数据相一致。

化合物 12 淡黄色油状,易溶于氯仿和甲醇; (+) ESI-MS: m/z 177.2 $[M+H]^+$, 199.4 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{10}H_8O_3$ (理论分子量为 176.2)。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD , δ , ppm, J /Hz): 7.89 (1H, d, J = 9.6, H-4), 7.54 (1H, d, J = 8.4, H-5), 6.93 (1H, dd, J = 8.4, 2.4, H-6), 6.91 (1H, d, J = 2.4, H-8), 6.25 (1H, d, J = 9.6, H-3), 3.90 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD , δ , ppm): 164.7 (C-2), 163.4 (C-7), 157.2 (C-9), 145.8 (C-4), 130.4 (C-5), 114.0 (C-10), 113.9 (C-3), 113.4 (C-6), 101.7 (C-8), 56.4 (7-OCH₃)。以上数据与文献^[21]报道的 7-甲氧基香豆素 (7-methoxy coumarin) 的数据相一致。

化合物 13 白色针状晶体,易溶于氯仿和甲醇; (-) ESI-MS: m/z 167.0 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_8H_8O_4$ (理论分子量为 168.1)。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD , δ , ppm, J /Hz): 7.55 (2H, m, H-5, 6), 6.82 (1H, d, J = 9.0, H-7), 3.88 (3H, s, 3-OMe); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD , δ , ppm): 170.1 (C-7), 152.6 (C-4), 148.6 (C-3), 125.2 (C-6), 123.1 (C-1), 115.8 (C-5), 113.8 (C-2), 56.4 (3-OMe)。以上数据与文献^[22]报道的香草酸 (vanillic acid) 的数据相一致。

化合物 14 白色粉末,易溶于氯仿和甲醇; (-) ESI-MS: m/z 137.0 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_7H_6O_3$ (理论分子量为 138.1)。 1H NMR (400 MHz, CD_3OD , δ , ppm, J /Hz): 7.88 (2H, m, H-2, 6), 6.82 (2H, d, J = 8.4, H-3, 5); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD , δ , ppm): 170.3 (C-7), 163.2 (C-4), 133.0 (C-2, 6), 122.6 (C-1), 116.0 (C-3, 5)。以上数据与文献^[23]报道的对羟基苯甲酸的数据相一致。

化合物 15 淡黄色油状,易溶于氯仿和甲醇; (+) ESI-MS: m/z 181.4 $[M+H]^+$, 203.4 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{16}O_2$ (理论分子量为 180.2)。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD , δ , ppm, J /Hz): 5.71 (1H, s, H-3), 1.80 (2H, m, H-6), 1.76 (1H, m, H-6), 1.57 (3H, d, J = 0.6, H₃-8), 1.45 (2H, dt, J = 4.8, H₂-5), 1.32 (1H, m, H-6), 1.29 (3H, s, H₃-9), 1.26 (3H, s, H₃-10); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD , δ , ppm): 185.5 (C-2), 174.4 (C-3a), 112.9 (C-3), 89.3 (C-7a), 42.8 (C-7), 41.3 (C-5), 37.7 (C-4), 30.2 (C-9), 24.6 (C-8), 24.5 (C-10), 20.6 (C-6)。以上数据与文献^[24]报道的二氢猕猴桃内酯 (dihydroactinidiolide) 的数据相一致。

化合物 16 白色针状晶体,易溶于氯仿和甲醇; (-) ESI-MS: m/z 183.1 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{10}H_{16}O_3$ (理论分子量为 184.2)。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD , δ , ppm, J /Hz): 7.00 (1H, t, J = 3.0, H-2), 2.48 (1H, m, H-7), 2.34 (1H, m, H-3), 2.13 (1H, m, H-7), 2.03 (1H, m, H-6), 1.55 (1H, m, H-4), 1.23 (1H, m, H-6), 1.19 (3H, d, J = 2.4, H₃-8), 1.18 (3H, br s, H₃-9); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD , δ , ppm): 170.9 (C-10), 141.0 (C-2), 131.5 (C-1), 72.8 (C-5), 45.6 (C-4), 28.5 (C-3), 27.0 (C-8), 26.4 (C-7), 26.4 (C-9), 24.6 (C-6)。以上数据与文献^[25]报道的 paeoveitol B 的数据相一致。

化合物 17 白色粉末,易溶于氯仿; (-) ESI-

MS: m/z 265.3 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{14}H_{18}O_5$ (理论分子量为 266.3)。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm, J/Hz): 5.19 (1H, br s, H-9), 4.74 (1H, br s, H-7), 4.23 (2H, br s, H₂-6), 3.88 (1H, dd, $J = 12.0, 3.0$, H-1a), 3.78 (1H, dd, $J = 11.4, 2.4$, H-1e), 1.99 (3H, s, H₃-14), 1.92 (2H, d, $J = 13.2$, H₂-4), 1.80 (2H, d, $J = 3.6$, H₂-3), 1.62 (2H, ddd, $J = 13.2, 11.4, 5.4$, H₂-2); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm): 168.4 (C-8), 111.3 (C-5), 84.8 (C-9), 81.7 (C-6), 80.9 (C-12), 79.4 (C-10), 69.8 (C-11), 64.9 (C-13), 62.9 (C-7), 57.8 (C-1), 28.0 (C-4), 24.7 (C-2), 19.0 (C-3), 4.9 (C-14)。以上数据与文献^[26]报道的 2-羟基-2-[(*E*)-1 α ,2 β ,3-三羟基-3-壬烷-5,7-二炔]-4*H*-吡喃的数据相一致。

化合物 18 白色粉末,易溶于氯仿和甲醇;(-) ESI-MS: m/z 144.0 $[M-H]^-$, 分子式为 C_9H_7NO (理论分子量为 145.1)。 1H NMR (600 MHz, CD_3OD , δ , ppm, J/Hz): 9.91 (1H, s, H-8), 8.18 (1H, d, $J = 7.8$, H-8), 8.12 (1H, s, H-2), 7.50 (1H, d, $J = 8.4$, H-7), 7.30 (1H, t, $J = 8.4$, H-6), 7.26 (1H, t, $J = 8.4$, H-5); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD , δ , ppm): 187.4 (C-8), 139.7 (C-2), 138.9 (C-7a), 125.7 (C-3a), 125.0 (C-6), 123.6 (C-5), 122.4 (C-4), 120.1 (C-3), 113.1 (C-7)。以上数据与文献^[27]报道的吲哚-3-乙醛(indole-3-aldehyde)的数据相一致。

化合物 19 无色片状结晶,易溶于氯仿。 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm, J/Hz): 5.35 (1H, s, H-6), 0.67 (3H, s, H₃-18), 1.00 (3H, s, H₃-19), 3.52 (1H, s, 3-OH); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm): 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 46.0 (C-4), 42.5 (C-13), 39.9 (C-12), 37.4 (C-1), 36.7 (C-10), 36.3 (C-20), 34.1 (C-7), 32.1 (C-8), 31.8 (C-22), 31.7 (C-2), 29.7 (C-24), 29.3 (C-25), 28.4 (C-16), 26.2 (C-28), 24.5 (C-15), 23.2 (C-27), 21.2 (C-11), 20.0 (C-26), 19.6 (C-19), 19.2 (C-27), 18.9 (C-21), 12.1 (C-29), 12.0 (C-18)。以上数据与文献^[12]报道的 β -谷甾醇(β -sitosterol)的数据相一致。

化合物 20 白色片状固体,易溶于氯仿和甲醇;(+) ESI-MS: m/z 879.4 $[2M + Na]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{14}O_4$ (理论分子量为 428.6)。 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm, J/Hz): 6.50 (1H, d, $J = 2.4$, H-7), 6.24 (1H, d, $J = 2.4$, H-6), 6.22 (1H, d, $J =$

7.8, H-22), 5.14 (1H, d, $J = 7.8$, H-23), 3.97 (1H, m, $J = 6.0$, H-3), 2.41-2.49 (1H, m, H-4b), 2.26-2.27 (1H, m, H-4a), 1.22-2.03 (19H, m), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$, H₃-21), 0.91 (3H, s, H₃-19), 0.89 (3H, d, $J = 6.6$, H₃-28), 0.81-0.84 (6H, d, $J = 6.6$, H₃-26, H₃-27); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$, δ , ppm): 135.6 (C-7), 135.3 (C-23), 132.5 (C-22), 130.9 (C-6), 82.3 (C-8), 79.6 (C-5), 66.6 (C-3), 56.4 (C-17), 51.8 (C-9), 51.2 (C-4), 44.7 (C-13), 42.9 (C-24), 39.9 (C-20), 39.5 (C-1), 37.1 (C-10, 14), 34.8 (C-12, 33.2 (C-25), 30.3 (C-2), 28.8 (C-15), 23.6 (C-16), 21.0 (C-27), 20.8 (C-11), 20.1 (C-26), 19.8 (C-21), 18.3 (C-19), 17.7 (C-28), 13.0 (C-18)。以上数据与文献^[28]报道的 3 β -羟基-5 α ,8 α -环二氧麦角甾-6,22-二烯麦角甾醇过氧化物(ergosterol peroxide)的数据相一致。

3.2 抗氧化活性实验结果

抗氧化活性结果显示,乙醇提取物和乙酸乙酯部位具有一定的抗氧化能力,其 IC_{50} 值分别为 81.54 ± 5.07 mg/mL 和 70.14 ± 4.53 mg/mL; 化合物 **3** 和 **8** 均表现出显著的 DPPH 自由基清除能力,其 IC_{50} 值分别为 9.9 ± 0.94 μ M 和 21.29 ± 1.65 μ M, 优于阳性对照维生素 C ($IC_{50} = 30.32 \pm 2.38$ μ M), 有望挖掘成为新的天然抗氧化剂。观察化合物结构,其自由基清除能力很可能与其苯环分子中存在的酚羟基有关。

3.3 抗菌活性实验结果

抗菌活性测试表明乙醇提取物对金黄色葡萄球菌株显示出微弱的抑制活性,其抑菌圈直径为 7.0 mm。而乙酸乙酯萃取物对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌有微弱的抑制活性,抑菌圈直径分别为 8.0 mm 和 9.0 mm。化合物 **9**, **14** 和 **16** 对三种菌株都有一定的抑制活性,其中化合物 **14** 在白色念珠菌,大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌株中均观察到最高的抗菌活性,其对三种菌株的抑菌圈半径分别为 20、9.5 和 12 mm。

4 结论

本研究从生长于我国新疆的千叶薯全草的乙醇提取物中分离鉴定了 20 个单体化合物,其中,化合物 **6**, **8** ~ **10**, **12** ~ **13**, **15** ~ **18** 首次从薯属中分离得到,化合物 **20** 首次从千叶薯植物中分离得到。此外,化合物 **3** 和 **8** 表现出显著的 DPPH 自由基清除能力,化合物 **14** 表现出显著的抗菌能力,千叶薯的乙醇提取物以及乙酸乙酯萃取物也表现出一定的抗

氧化活性以及抗菌活性。千叶蓍作为传统草药,对其开展系统化学成分分离纯化及其生物活性研究有助于千叶蓍资源的开发与利用,为医药和天然产物的开发提供理论和物质基础。

参考文献

- Si XT, Zhang ML, Shi QW, et al. Chemical constituents of the plants in the genus *Achillea* [J]. Chem Biodivers, 2006, 3: 1163-1179.
- Editorial Committee of Flora of China of Chinese Academy of Science. Flora reipublicae popularis sinicae (Flora of China): Tomus 76 (中国植物志: 第 76 卷) [M]. Beijing: Science Press, 1990: 009-010
- Ali SI, Gopalakrishnan B, Venkatesalu V. Pharmacognosy, phytochemistry and pharmacological properties of *Achillea millefolium* L.: a review [J]. Phytother Res, 2017, 31: 1140-1161.
- Benetis R, Radusiene J, Janulis V. Variability of phenolic compounds in flowers of *Achillea millefolium* wild populations in Lithuania [J]. Medicina, 2008, 44: 775-781.
- Yassa N, Saeidnia S, Pirouzi R, et al. Three phenolic glycosides and immunological properties of *Achillea millefolium* from Iran, population of Golestan [J]. Daru, 2007, 1: 49-52.
- Li Y, Ni ZY, Zhu MC, et al. Millifolidides A-C new 1, 10-secoguaianolides from the flowers of *Achillea millefolium* [J]. Z Naturforsch B, 2012, 67: 438-446.
- Li Y, Zhang ML, Cong B, et al. Achillinin A, a cytotoxic guaianolide from the flower of yarrow [J]. J Agric Chem Soc Japan, 2011, 75: 1554-1556.
- Falk AJ, Smolenski SJ, Bauer L, et al. Isolation and identification of three new flavones from *Achillea millefolium* L. [J]. J Pharm Sci-US, 1975, 64: 1838-1842.
- Abdurahman Mahfuzam, et al. Research on antibacterial effect of *Achillea millefolium* from Xinjiang [J]. J Anhui Agri Sci (安徽农业科学), 2013, 41: 9938-9939.
- Huo CH, Li Y, Zhang ML, et al. Cytotoxic flavonoids from the flowers of *Achillea millefolium* [J]. Chem Nat Compd, 2013, 48: 958-962.
- Marco JA, Barberá O, Rodríguez S, et al. Flavonoids and other phenolics from *Artemisia hispanica* [J]. Phytochemistry, 1988, 27: 3155-3159.
- Xu XJ, Wang W, Wang YH. Study on the chemical constituents of *Fruticosa potentilla* L. [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2013, 25: 1367-1369.
- Itokawa H, Suto K, Takeya K. Studies on a novel *p*-coumaroyl glucoside of apigenin and on other flavonoids isolated from patchouli (Labiatae) [J]. Chem Pharm Bull, 2008, 29: 254-256.
- Li J, Jiang H, Shi RB. A new acylated quercetin glycoside from the leaves of *Atevia rebaudiana* Bertoni [J]. Nat Prod Res, 2009, 23: 1378-1383.
- Zhang F, Chu CH, Xu Q, et al. A new amide from *Asarum forbesii* Maxim [J]. J Asian Nat Prod Res, 2005, 7: 1-5.
- Chaves OS, Teles YC, Monteiro MM, et al. Alkaloids and phenolic compounds from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and vasorelaxant activity of two indoquinoline alkaloids [J]. Molecules, 2017, 22: 1-9.
- Qi JJ, Yan YM, Wang CX, et al. Compounds from *Lycium ruthenicum* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 30: 345-353.
- Youn K, Jun M. Inhibitory effects of key compounds isolated from *Corni fructus* on BACE1 activity [J]. Phytother Res, 2012, 26: 1714-1718.
- Sui HF, Yin SQ, Zou AY. Studies on chemical constituents of *Drynaria roosii* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46: 2993-2996.
- Zhang W, Shen YH, Liu RH, et al. Coumarins from the bark of *Daphne marginata* [J]. Chem Nat Compd, 2007, 43: 317-318.
- Duan HX, Luo WY, Yang YS, et al. Chemical constituents in ethyl acetate fraction of *Artemisia selengensis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46: 1441-1444.
- Sakushima A, Coskun M, Maoka T. Hydroxybenzoic acids from *Boreava orientalis* [J]. Phytochemistry, 1995, 40: 257-261.
- Pardede A, Adfa M, Kusnanda AJ, et al. Flavonoid rutosides from *Cinnamomum parthenoxylon* leaves and their hepatoprotective and antioxidant activity [J]. Med Chem Res, 2017, 26: 2074-2079.
- Wei Q, Yang JB, Wang AG, et al. Chemical constituents from aerial parts of *Ligusticum sinense* cv. Chaxiong [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2014, 45: 1980-1983.
- Liang WJ, Ma YB, Geng CA, et al. Paeoveitols A-E from *Paeonia veitchii* [J]. Fitoterapia, 2015, 106: 36-40.
- Zhu Y, Zhang LX, Zhao Y, et al. Unusual sesquiterpene lactones with a new carbon skeleton and new acetylenes from *Ajanía przewalskii* [J]. Food Chem, 2010, 118: 228-238.
- Wang RP, Lin HW, Li LZ, et al. Monoindole alkaloids from a marine sponge *Mycale fibrexilis* [J]. Biochem Syst Ecol, 2012, 43: 210-213.
- Ying YM, Zhan ZJ, Ding ZS, et al. Bioactive metabolites from *Penicillium* sp. P-1, a fungal endophyte in *Huperzia serrata* [J]. Chem Nat Compd, 2011, 47: 541-544.