

滇虎榛叶的化学成分及其抗氧化活性研究

冯萌萌^{1,2}, 张艳侠², 夏兵², 何达海², 丁立生², 周燕², 叶晓霞^{1*}

1. 温州医科大学, 浙江 温州 325035

2. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041

摘要: 目的 研究滇虎榛 *Ostryopsis nobilis* 叶的化学成分及其抗氧化活性。方法 采用多种色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定其结构。采用改进的 DPPH 方法对主要成分进行了抗氧化活性研究。结果 从滇虎榛叶 95%乙醇提取物中共分离得到 23 个化合物, 分别鉴定为黑麦草内酯 (1)、山楂酸 (2)、香草酸 (3)、3 β -(3, 4-dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol (4)、dammarenediol II 3-cafeate (5)、松脂素 (6)、槲皮素 (7)、胡萝卜苷 (8)、山柰酚 (9)、3, 5-dihydroxy-1, 7-bis (4H-hydroxyphenyl) heptane (10)、赤杨二醇 (11)、木犀黄酮二醇 (12)、槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯糖苷 (13)、异槲皮苷 (14)、2, 3-二羟基苯甲酸 (15)、异槲皮苷-6"-丁酸酯 (16)、异槲皮苷-6"-苯甲酸酯 (17)、4"-反-香豆酰基-山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷 (18)、4"-顺-香豆酰基-山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷 (19)、山楂酸-28-O- β -D-葡萄糖苷 (20)、没食子酸 (21)、桦木四醇 (22) 和肌醇 (23)。结论 化合物 1~23 均为首次从该属植物中分离得到, 抗氧化活性测试显示, 滇虎榛叶粗提物的抗氧化活性较强, 包括 4 个二芳基庚烷类化合物在内的 6 个单体化合物也呈现出一定的抗氧化活性。

关键词: 滇虎榛; 黑麦草内酯; 山楂酸; 松脂素; 没食子酸; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)19-2650-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.19.004

Chemical constituents in leaves of *Ostryopsis nobilis* and their anti-oxidant activities

FENG Meng-meng^{1,2}, ZHANG Yan-xia², XIA Bing², HE Da-hai², DING Li-sheng², ZHOU Yan², YE Xiao-xia¹

1. Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

2. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Ostryopsis nobilis* and their anti-oxidant activities. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by various column chromatographic methods. Their structures were identified by physicochemical properties and spectral analyses. **Results** Twenty-three compounds were isolated from the 95% ethanol extract and identified as loliolide (1), maslinic acid (2), vanillic acid (3), 3 β -(3, 4-dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol (4), dammarenediol II 3-cafeate (5), pinoresinol (6), quercetin (7), daucosterol (8), kaempferol (9), 3, 5-dihydroxy-1, 7-bis (4H-hydroxyphenyl) heptane (10), alnusdiol (11), casuarinondiol (12), quercetin-3-O- α -L-arabinoside (13), isoquercetin (14), 2, 3-dihydroxybenzoic acid (15), isoquercetin-6"-butyl acetate (16), isoquercetin-6"-benzoate (17), 4"-trans-p-coumaroyl-kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside (18), 4"-cis-p-coumaroyl-kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside (19), maslinic acid-28-O- β -D-glucoside (20), gallic acid (21), betulatetraol (22), and L-chiroinositol (23). **Conclusion** All the compounds are isolated from the plants in this genus for the first time. Diarylheptanoid compounds and other ten monomer compounds exhibit the good scavenging activities against 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and *O. nobilis* extracts show moderate anti-oxidant effects.

Key words: *Ostryopsis nobilis* Balf. f. & W. W. Smith; loliolide; maslinic acid; pinoresinol; gallic acid; anti-oxidant activity

滇虎榛 *Ostryopsis nobilis* Balf. f. & W. W. Smith 为桦木科 (Betulaceae) 虎榛子属 *Ostryopsis* Decne. 植物, 也是中国特有属植物^[1], 为四川西南部及云

南西北部的特有种, 常见于海拔 1 500~3 000 m 的河谷和岩坡, 丛生。滇虎榛子在民间以茎皮入药, 有接骨止血之功效。但迄今为止, 对于虎榛子属植

收稿日期: 2013-05-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30973634); 浙江省自然科学基金资助项目 (LY12B02007); 温州市科技局科技资助项目 (Y20100076)

作者简介: 冯萌萌 (1988—), 女, 山东聊城人, 在读硕士, 主要从事天然产物化学成分的研究。Tel: 18200211989 E-mail: fengmeng996@126.com

*通信作者 叶晓霞 E-mail: yxx@wzmc.edu.cn

物化学成分的研究较少^[2-3]。为了更好地探究该特有属植物的药用价值,本实验对滇虎榛叶的化学成分进行研究,从其95%乙醇提取物中分离得到23个化合物,分别鉴定为黑麦草内酯(lololide, **1**)、山楂酸(maslinic acid, **2**)、香草酸(vanillic acid, **3**)、3 β -(3, 4-dihydroxy-cinnamoyl)-erythrodil (**4**)、dammarenediol II 3-caffeate(**5**)、松脂素(pinoresinol, **6**)、槲皮素(querletin, **7**)、胡萝卜苷(daucosterol, **8**)、山柰酚(kaempferol, **9**)、3, 5-dihydroxy-1, 7-bis (4H-hydroxyphenyl) heptane (**10**)、赤杨二醇(alnusdiol, **11**)、木麻黄酮二醇(casuarinondiol, **12**)、槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯糖苷(querletin-3-O- α -L-arabinoside, **13**)、异槲皮苷(isoquerletin, **14**)、2, 3-二羟基苯甲酸(2, 3-dihydroxybenzoic acid, **15**)、异槲皮苷-6"-丁酸酯(isoquerletin-6"-butyl acetate, **16**)、异槲皮苷-6"-苯甲酸酯(isoquerletin-6"-benzoate, **17**)、4"-反-香豆酰基-山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷(4"-trans-p-coumaroyl-kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside, **18**)、4"-顺-香豆酰基-山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷(4"-cis-p-coumaroyl-kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside, **19**)、山楂酸-28-O- β -D-葡萄糖苷(maslinic acid-28-O- β -D-glucoside, **20**)、没食子酸(gallic acid, **21**)、桦木四醇(betulatetraol, **22**)和肌醇(L-chiroinositol, **23**)。化合物**1**~**23**均为首次从该属植物中分离得到。采用改进的DPPH(2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)方法对主要成分进行抗氧化活性研究,结果显示,滇虎榛叶粗提物的抗氧化活性较强,包括4个二芳基庚烷类化合物在内的6个化合物也呈现出一定的抗氧化活性。

1 仪器和材料

Bruker AV-600 核磁共振仪, Finnigan LCQ^{DECA} 质谱仪, HPLC 制备色谱(Waters 公司)。薄层色谱 GF254 和柱色谱硅胶均为青岛海洋化工厂产品, ODS 色谱柱(Cosmosil 75 C₁₈-OPN)为 Nacalai Tesque 公司产品, 反相填充材料 RP₁₈(40~60 μ m)为 Merck 公司产品, MCI-gel CHP-20P(日本三菱化工生产), Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱为美国 Pharmacia 公司产品。DPPH 为 Sigma-Aldrich 公司产品。

滇虎榛 *Ostryopsis nobilis* Balf. f. & W. W. Smith 于 2009 年 8 月采自四川茂县, 植物标本(T14)由中国科学院成都生物研究所胡孝宏副研究员采集样品并鉴定。

2 提取与分离

滇虎榛干燥叶片 5 kg, 粉碎, 95%乙醇溶液室

温浸泡 3 次, 每次 7 d, 提取液合并减压浓缩, 得到总提取物 400 g, 加入适量的温水分散, 依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇各萃取 3 次。浓缩溶剂后分别得到石油醚萃取物 40 g, 醋酸乙酯萃取物 70 g 和正丁醇萃取物 50 g。

醋酸乙酯萃取物(70 g)经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇(1:0 $\rightarrow$ 0:1)梯度洗脱, 共得到 6 个组分(A~F)。各部分经 MCI 柱色谱, 除去叶绿素。A 部分经常压硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮梯度洗脱(石油醚:丙酮 20:1 $\rightarrow$ 0:1), 分段为 A1~A5。A3 部分经反相硅胶柱色谱, 重结晶(丙酮)得到化合物 **1**(7.0 mg); A4 部分经反相硅胶柱色谱, 分离纯化得到化合物 **2**(10.8 mg)和 **3**(20 mg); A5 部分重结晶(甲醇)得到化合物 **4**(30 mg)和 **5**(25 mg), 剩余部分经反相硅胶柱色谱, 分离纯化得到化合物 **6**(10 mg)。B 部分重结晶(甲醇)得化合物 **7**(300 mg)、**8**(500 mg), 进一步反相柱色谱得化合物 **9**(60 mg)。C 部分经反相硅胶柱色谱, 得 C1、C2 2 个部分, C1 经反复硅胶柱色谱得化合物 **10**(30 mg)、**11**(20 mg)。C2 经 Sephadex LH-20 纯化得到化合物 **12**(6.5 mg)。D 部分用甲醇重结晶得化合物 **13**(1.1 g), 母液部分经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇(30:1 $\rightarrow$ 0:1)梯度洗脱, 分段为 D1~D4。D2 部分用甲醇重结晶纯化得化合物 **14**(1.1 g)。D3 部分经反相硅胶柱色谱(甲醇-水 15% $\rightarrow$ 80%梯度洗脱), Sephadex LH-20 纯化以及 HPLC 制备色谱(甲醇-水 30% $\rightarrow$ 90%梯度洗脱)得化合物 **15**(15 mg)、**16**(13 mg)、**17**(6.5 mg)、**18**(15 mg)、**19**(6 mg)、**20**(10 mg)。E 部分(3.0 g)重结晶(甲醇)得化合物 **21**(150 mg); 母液部分经反相硅胶柱色谱(甲醇-水 15% $\rightarrow$ 65%梯度洗脱), 得到化合物 **22**(30 mg)。F 部分(250 g), 经大孔树脂洗脱后, 进行常压硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 30:1 $\rightarrow$ 0:1 梯度洗脱), 得到化合物 **23**(25 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色结晶(丙酮); ESI-MS m/z : 218 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.75 (1H, s, H-7), 4.97 (1H, s, OH), 4.10 (1H, m, H-3), 2.27 (1H, d, J = 13.3 Hz, H-4), 1.61 (1H, dd, J = 13.3, 3.8 Hz, H-4), 1.85 (1H, d, J = 14.1 Hz, H-2), 1.40 (1H, dd, J = 14.2, 3.4 Hz, H-2), 1.36 (3H, s, H-9), 1.17 (3H, s, H-10); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 183.6 (C-8), 171.6 (C-6), 112.5 (C-7), 87.0 (C-5), 65.3

(C-3), 47.1 (C-2), 45.7 (C-4), 36.1 (C-1)。以上数据与文献报道一致^[4], 故鉴定化合物 **1** 为黑麦草内酯。

化合物 **2**: 白色粉末 (丙酮); ESI-MS m/z : 471 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 5.15 (1H, brs, H-12), 3.45-3.36 (2H, m, H-2, 3), 1.45, 1.30, 1.22, 1.08, 0.91, 0.89, 0.86 (各 3H, s, H-23, 24, 25, 26, 27, 29, 30); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 16.8 (C-23), 17.3 (C-25), 17.6 (C-26), 18.5 (C-6), 23.1 (C-16), 23.5 (C-30), 23.8 (C-11), 26.1 (C-27), 27.6 (C-15), 29.3 (C-24), 30.9 (C-20), 32.6 (C-22), 32.8 (C-7), 33.3 (C-29), 33.8 (C-21), 38.1 (C-10), 39.4 (C-8), 39.4 (C-4), 41.3 (C-18), 41.8 (C-14), 45.9 (C-19), 46.1 (C-1), 47.3 (C-9), 47.5 (C-17), 55.2 (C-5), 67.5 (C-2), 82.6 (C-3), 121.9 (C-12), 144.4 (C-13), 179.0 (C-28)。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为山楂酸。

化合物 **3**: 白色粉末 (氯仿); EI-MS m/z : 168 $[M]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.72~7.55 (2H, m, H-2, 6), 6.89 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 3.94 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 168.6 (-COOH), 151.3 (C-4), 147.3 (C-3), 123.9 (C-6), 121.7 (C-1), 114.4 (C-5), 112.4 (C-2), 55.0 (-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为香草酸。

化合物 **4**: 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 627 $[M+Na]^+$, 603 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.01 (1H, dd, $J = 7.3, 1.6$ Hz, H-9'), 6.87 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-8'), 7.09 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-5'), 7.55 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-3'), 6.27 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-2'), 0.88 (3H, s, H-30), 0.90 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-27), 0.95 (3H, s, H-26), 0.99 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-24), 0.92 (3H, s, H-23), 3.57 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-28), 3.24 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-28), 1.20 (2H, m, H-21), 2.00 (1H, m, H-18), 5.20 (1H, m, H-12), 1.67 (2H, m, H-11), 4.64 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-3), 1.87 (2H, m, H-2); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 122.4 (C-9'), 115.5 (C-8'), 146.0 (C-7'), 143.7 (C-6'), 114.4 (C-5'), 127.8 (C-4'), 144.2 (C-3'), 116.5 (C-2'), 167.4 (C-1'), 33.2 (C-30), 23.6 (C-29), 69.8 (C-28), 25.9 (C-27), 16.9 (C-26), 15.6 (C-25), 16.7 (C-24), 28.1 (C-23), 30.9 (C-22), 34.1 (C-21), 31.0 (C-20), 46.4 (C-19), 42.3 (C-18), 36.9 (C-17), 22.0 (C-16), 25.6 (C-15), 41.7 (C-14), 144.2 (C-13),

122.4 (C-12), 23.7 (C-11), 36.9 (C-10), 47.5 (C-9), 39.8 (C-8), 32.5 (C-7), 18.3 (C-6), 55.3 (C-5), 38.0 (C-4), 81.0 (C-3), 23.6 (C-2), 38.3 (C-1)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为 3 β -(3, 4-dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 629 $[M+Na]^+$, 605 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.51 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-3'), 7.14 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5'), 7.00 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-9'), 6.84 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8'), 6.27 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-2'), 5.11 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-12), 4.55 (1H, dd, $J = 11.1, 5.1$ Hz, H-3), 1.64 (3H, s, H-26), 1.59 (3H, s, H-27), 1.12 (3H, s, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, s, H-28), 0.92 (3H, s, H-29), 0.92 (3H, s, H-18), 0.85 (3H, s, H-30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 121.5 (C-9'), 115.2 (C-8'), 147.9 (C-7'), 144.6 (C-6'), 114.1 (C-5'), 126.6 (C-4'), 145.5 (C-3'), 115.4 (C-2'), 166.5 (C-1'), 16.2 (C-30), 15.0 (C-29), 27.5 (C-28), 16.8 (C-27), 25.8 (C-26), 130.3 (C-25), 125.2 (C-24), 22.4 (C-23), 41.0 (C-22), 25.0 (C-21), 73.7 (C-20), 15.8 (C-19), 16.1 (C-18), 49.5 (C-17), 27.5 (C-16), 31.1 (C-15), 50.2 (C-14), 42.0 (C-13), 24.5 (C-12), 21.5 (C-11), 37.0 (C-10), 50.6 (C-9), 40.4 (C-8), 35.1 (C-7), 18.0 (C-6), 55.9 (C-5), 37.9 (C-4), 80.2 (C-3), 23.7 (C-2), 38.6 (C-1)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为 dammarenediol II 3-caffeate。

化合物 **6**: 白色粉末 (甲醇); EI-MS m/z : 358 $[M]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.93 (2H, s, -OH), 6.89 (2H, s, H-6, 6'), 6.74 (4H, m, H-3, 3', 2, 2'), 4.61 (2H, s, H-7, 7'), 4.12 (2H, s, H-9, 9'), 3.76 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 3.72 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-9, 9'), 3.03 (2H, s, H-8, 8'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 148.0 (C-4, 4'), 146.4 (C-5, 5'), 132.8 (C-1, 1'), 119.1 (C-2, 2'), 115.6 (C-3, 3'), 110.9 (C-6, 6'), 85.7 (C-7, 7'), 71.4 (C-9, 9'), 56.1 (C-8, 8'), 54.1 (2-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **6** 为松脂素。

化合物 **7**: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 301 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.47 (1H, s, 5-OH), 10.73 (1H, s, 8-OH), 9.54 (1H, s, 7-OH), 9.31 (1H, s, 3'-OH), 9.25 (1H, s, 4'-OH), 7.66 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.52 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, d,

$J = 1.9$ Hz, H-6), 6.17 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-3)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为槲皮素。

化合物 **8**: 白色粉末 (氯仿-甲醇); ESI-MS m/z : 593 $[M+Na]^+$ 。与胡萝卜苷对照品共薄层, 在不同的溶剂系统展开对比, Rf 值均相同。故鉴定化合物 **8** 为胡萝卜苷。

化合物 **9**: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 285 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.45 (1H, s, 5-OH), 10.88 (1H, s, 3-OH), 10.17 (1H, s, 4'-OH), 9.37 (1H, s, 7-OH), 8.03 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, s, H-6), 6.19 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-8)。以上数据与文献报道一致^[11], 与山柰酚对照品共薄层, 其 Rf 值一致, 故鉴定化合物 **9** 为山柰酚。

化合物 **10**: 浅黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 339.32 $[M+Na]^+$, 315.20 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD₃COCD₃) δ : 6.99 (4H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6', 2'', 6''), 6.70 (4H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5', 3'', 5''), 3.86 (2H, m, H-3, 5), 2.67~2.50 (4H, m, H-1, 7), 1.72~1.62 (4H, m, H-2, 6), 1.56 (2H, t, $J = 2.9$ Hz, H-4); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃COCD₃) δ : 129.2 (C-6''), 115.0 (C-5''), 155.3 (C-4''), 115.0 (C-3''), 129.2 (C-2''), 133.2 (C-1''), 129.2 (C-6'), 115.0 (C-5'), 155.3 (C-4'), 115.0 (C-3'), 129.2 (C-2'), 133.2 (C-1'), 31.0 (C-7), 40.1 (C-6), 67.5 (C-5), 43.8 (C-4), 67.4 (C-3), 40.1 (C-2), 31.0 (C-1)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为 3, 5-dihydroxy-1, 7-bis (4H-hydroxyphenyl) heptane。

化合物 **11**: 无色粒状晶体 (甲醇); ESI-MS m/z : 313 $[M-H]^-$ 。 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.57 (1H, s, 9-OH), 9.51 (1H, s, 11-OH), 7.02 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4, 15), 6.95 (2H, s, H-6, 19), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3, 16), 3.72 (2H, m, H-9, 11), 2.83~2.73 (4H, m, H-7, 13), 2.18 (2H, td, $J = 12.4, 2.6$ Hz, H-8, 12), 1.74 (2H, m, H-10), 1.63~1.59 (2H, m, H-8, 12); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 151.0 (C-2, 17), 133.6 (C-6, 19), 130.6 (C-5, 14), 129.1 (C-4, 15), 125.9 (C-1, 18), 115.6 (C-3, 16), 65.9 (C-9, 11), 50.5 (C-10), 34.4 (C-8, 12), 26.1 (C-7, 13)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **11** 为赤杨二醇。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 329 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.05 (1H, dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz, H-4), 7.01 (1H, dd, $J = 8.1, 2.2$

Hz, H-15), 6.80 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, H-3, 16), 6.74 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6), 6.52 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-19), 4.39 (1H, dd, $J = 6.5, 1.8$ Hz, H-12), 4.04 (1H, td, $J = 8.0, 4.0$ Hz, H-8), 3.47 (2H, d, $J = 15.8$ Hz, H-13, 10), 3.03 (1H, dd, $J = 15.7, 3.4$ Hz, H-7), 2.89 (2H, td, $J = 15.3, 7.2$ Hz, H-13, 10), 2.80 (1H, dd, $J = 15.7, 9.4$ Hz, H-7), 1.88 (2H, dd, $J = 13.3, 9.6$ Hz, H-9); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 218.7 (C-11), 151.9 (C-2), 151.5 (C-17), 134.3 (C-6), 133.4 (C-19), 130.3 (C-5), 129.4 (C-14), 129.2 (C-4), 128.4 (C-15), 126.7 (C-1), 125.7 (C-18), 115.6 (C-3), 115.4 (C-16), 76.7 (C-12), 71.8 (C-8), 48.4 (C-10), 40.6 (C-7), 38.9 (C-13), 38.1 (C-10), 30.7 (C-9)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **12** 为木麻黄酮二醇。

化合物 **13**: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 433 $[M-H]^-$, 301 $[M-H-132]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.64 (1H, s, 5-OH), 10.84 (1H, s, 7-OH), 9.72 (1H, s, 4'-OH), 9.17 (1H, s, 3-OH), 7.65 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, H-6'), 7.50 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.84 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.27 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-1''), 3.60 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-5''), 3.21 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-5''), 3.76~3.17 (6H, m, sugar-H); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.0 (C-4), 164.6 (C-7), 161.7 (C-5), 156.7 (C-2, C-9), 149.1 (C-4'), 145.4 (C-3'), 134.2 (C-3), 122.5 (C-1'), 121.4 (C-6'), 116.2 (C-5'), 115.8 (C-2'), 104.4 (C-10), 101.9 (C-1''), 99.1 (C-6), 94.0 (C-8), 72.1 (C-3''), 71.2 (C-2''), 66.5 (C-4''), 64.7 (C-5'')。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **13** 为槲皮素-3-*O*- α -L-阿拉伯糖苷。

化合物 **14**: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 301 $[M-H-162]^-$, 463 $[M-H]^-$, 487 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.62 (1H, s, 5-OH), 10.86 (1H, s, 7-OH), 9.71 (1H, s, 4'-OH), 9.14 (1H, s, 3-OH), 7.66 (1H, d, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, brs, H-2'), 6.82 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, s, H-8), 6.21 (1H, s, H-6), 5.37 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 3.65~3.45 (6H, m, sugar-H)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **14** 为异槲皮苷。

化合物 **15**: 白色粉末 (甲醇); EI-MS m/z : 154 $[M]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.26 (1H, s, -COOH), 9.61 (1H, s, 2-OH), 9.23 (1H, s, 3-OH), 7.31

(1H, dd, $J = 5.9, 2.0$ Hz, H-6), 7.26 (1H, dd, $J = 8.0, 5.9$ Hz, H-5), 6.75 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-4); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 167.7 (-COOH), 150.5 (C-1), 145.3 (C-2), 122.3 (C-3), 122.1 (C-6), 117.0 (C-5), 115.6 (C-4)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **15** 为 2, 3-二羟基苯甲酸。

化合物 **16**: 黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z : 557 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 533 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 300 $[\text{M} - \text{H} - (162 + 71)]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.61 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-6'), 7.60 (1H, s, H-2'), 6.84 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, s, H-6), 6.20 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 5.27 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.05~3.46 (6H, m, sugar-H), 1.62~1.43 (2H, m, H-8''), 1.25 (2H, dt, $J = 15.0, 7.3$ Hz, H-9''), 0.83 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-10''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 177.8 (C-4), 168.8 (C-7''), 164.6 (C-7), 161.6 (C-5), 157.7 (C-10), 157.0 (C-2), 148.5 (C-4'), 144.6 (C-3'), 133.9 (C-3), 122.1 (C-1'), 121.5 (C-6'), 115.8 (C-5'), 114.5 (C-2'), 104.2 (C-10), 103.0 (C-1'), 98.6 (C-6), 93.4 (C-8), 76.1 (C-3''), 75.8 (C-7''), 74.0 (C-2''), 71.3 (C-4''), 64.8 (C-6''), 30.1 (C-8''), 18.5 (C-9''), 12.5 (C-10'')。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **16** 为异槲皮苷-6''-丁酸酯。

化合物 **17**: 黄色固体 (甲醇); ESI-MS m/z : 591 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 567 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 300 $[\text{M} - \text{H} - (162 + 105)]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.62 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, H-9'', 13''), 7.59 (1H, m, H-11''), 7.55 (1H, dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, H-6''), 7.48 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 7.26 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, H-10'', 12''), 6.80 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6), 5.44 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.16~3.15 (6H, m, sugar-H)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **17** 为异槲皮苷-6''-苯甲酸酯。

化合物 **18**: 黄色晶体 (甲醇); ESI-MS m/z : 577 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 601 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1 179 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.76 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.55 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'''), 7.51 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2''', 6'''), 7.00 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 4'), 6.82 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3''', 4'''), 6.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.29 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'''), 6.21 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.63 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-1''), 4.92 (1H, t, $J = 9.8$ Hz, H-4''), 4.22 (1H, dd, $J =$

3.1, 1.6 Hz, H-2''), 3.91 (1H, dd, $J = 9.8, 3.2$ Hz, H-3''), 3.20 (1H, dq, $J = 12.4, 6.2$ Hz, H-5''), 0.79 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-6''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 178.1 (C-4), 167.3 (C-9'''), 164.5 (C-7), 161.8 (C-5), 160.3 (C-4'), 159.9 (C-4'''), 158.1 (C-2), 157.2 (C-9), 145.3 (C-7'''), 133.9 (C-3), 130.6 (C-2'), 130.6 (C-6'), 129.9 (C-2'''), 129.9 (C-6'''), 125.8 (C-1'''), 121.3 (C-1'), 115.4 (C-3'), 115.4 (C-5'), 115.2 (C-3'''), 115.2 (C-5'''), 113.8 (C-8'''), 104.6 (C-10), 100.8 (C-1''), 98.5 (C-6), 93.4 (C-8), 73.3 (C-4''), 70.4 (C-2''), 68.7 (C-3''), 68.3 (C-5''), 16.2 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **18** 为 4''-反-香豆酰基-山柰酚-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **19**: 黄色晶体 (甲醇); ESI-MS m/z : 577 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 601 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1 179 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.73 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.66 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2''', 6'''), 6.94 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 4'), 6.87 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-7'''), 6.74 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3''', 4'''), 6.37 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.75 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-8'''), 5.50 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-1''), 4.92~4.87 (3H, m, H-4'', 2'', 3''), 3.54 (1H, m, H-5''), 0.87 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-6'')。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **19** 为 4''-顺-香豆酰基-山柰酚-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **20**: 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 657 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 471 $[\text{M} - \text{H} - 162]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.33 (1H, brs, H-12), 3.94~3.82 (2H, m, H-2, 3), 5.45 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-1'), 1.23, 1.08, 1.08, 0.99, 0.99, 0.87, 0.87 (各 3H, s, H-23, 24, 25, 26, 27, 29, 30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 15.7 (C-23), 16.0 (C-25), 16.4 (C-26), 18.2 (C-6), 22.5 (C-16), 22.6 (C-30), 23.2 (C-11), 24.9 (C-27), 27.5 (C-15), 27.5 (C-24), 30.1 (C-20), 31.7 (C-22), 32.1 (C-7), 32.5 (C-29), 33.5 (C-21), 37.9 (C-10), 39.1 (C-8), 39.4 (C-4), 41.2 (C-18), 41.6 (C-14), 45.8 (C-19), 46.6 (C-1), 46.8 (C-9), 48.1 (C-17), 55.3 (C-5), 61.1 (C-6'), 68.1 (C-4'), 69.8 (C-2), 72.5 (C-2'), 77.0 (C-3'), 77.3 (C-5'), 83.1 (C-3), 94.3 (C-1'), 122.2 (C-12), 143.6 (C-13), 176.7 (C-28)。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **20** 为山楂酸-28-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **21**: 白色粉末 (甲醇); TLC 254 nm 下

有暗斑,香草醛-浓硫酸加热显青灰色,与没食子酸对照品共薄层,在不同的溶剂系统展开对比,Rf值均相同。故鉴定化合物 **21** 为没食子酸。

化合物 **22**: 无色针状晶体(甲醇); ESI-MS m/z : 369 $[M+Na]^+$, 345.25 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.03 (2H, dd, $J = 8.3, 1.8$ Hz, H-4, 15), 6.80 (4H, d, $J = 8.1$ Hz, H-3, 16, 6, 19), 4.36 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-8, 12), 4.07 (2H, dd, $J = 7.7, 4.7$ Hz, H-9, 11), 2.97 (4H, d, $J = 7.6$ Hz, H-7, 13), 2.22 (2H, dd, $J = 7.9, 4.5$ Hz, H-10); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 151.2 (C-2, 2'), 133.9 (C-6, 6'), 129.4 (C-5, 5'), 129.1 (C-4, 4'), 126.0 (C-1, 1'), 115.7 (C-3, 3'), 66.3/69.9 (C-8,12/9,11), 40.76 (C-10), 34.91 (C-7, 13)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **22** 为桦木四醇。

化合物 **23**: 白色针晶(甲醇); EI-MS m/z : 180 $[M]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 4.57 (1H, s, OH), 4.37 (1H, s, OH), 4.25 (1H, s, OH), 3.65 (1H, s, OH), 3.42 (2H, m, 2 $\times$ -OH), 3.31~3.27 (6H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1~6); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 73.6 (C-1, 2), 72.6 (C-4, 5), 71.2 (C-3, 6)。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **23** 为肌醇。

4 抗氧化活性测试

准确称量 3.48 mg DPPH 溶于无水乙醇溶液中, 定容 50 mL, 黑暗处冷藏备用。分别取一定量的待测样品, 溶解于二甲基亚砜(DMSO)中, 并稀释成 5 个不同浓度梯度的待测液(乙醇提取物、石油醚萃取部分、醋酸乙酯萃取部分、正丁醇萃取部分分别为 500、100、20、4、0.8 $\mu g/mL$; 化合物 **1**、**2**、**4**、**6**、**11**、**12**、**14**、**18**、**20**、**22** 分别为 500、100、20、4、0.8 $\mu mol/L$)。在 96 孔板 3 个复孔中加入 20 μL 溶于 DMSO 的待测样品, 随后迅速加入 100 $\mu mol/L$ DPPH 乙醇溶液 180 μL , 置于黑暗处反应 30 min, 震荡 30 s, 后于 517 nm 波长处检测吸光度。同样条件下, 以 20 μL DMSO 代替待测样品作为空白, 以未加入 DPPH 的待测样品乙醇溶液作为样品本身吸光度的背景消除。以 DPPH 清除率为 50%时待测样品浓度(IC_{50})作为评价指标, 维生素 C 和没食子酸为阳性对照。结果见表 1。

实验结果显示, 滇虎榛子叶子粗提物的抗氧化活性较强, 包括 4 个二芳基庚烷类化合物在内的 6 个量较大的化合物也呈现出一定的抗氧化活性。

表 1 样品对 DPPH 自由基的清除活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 DPPH radical scavenging activities of samples ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

名称	IC_{50}
乙醇提取物	(4.70 $\pm$ 0.77) $\mu g/mL$
石油醚萃取部分	(86.61 $\pm$ 3.35) $\mu g/mL$
醋酸乙酯萃取部分	(6.07 $\pm$ 0.48) $\mu g/mL$
正丁醇萃取部分	(2.74 $\pm$ 0.72) $\mu g/mL$
1	ND
2	ND
4	(2.19 $\pm$ 0.48) $\mu mol/L$
6	(6.80 $\pm$ 0.52) $\mu mol/L$
11	(41.11 $\pm$ 1.47) $\mu mol/L$
12	(52.00 $\pm$ 2.32) $\mu mol/L$
14	(228.40 $\pm$ 1.69) $\mu mol/L$
18	ND
20	ND
22	(20.60 $\pm$ 0.87) $\mu mol/L$
维生素 C	(7.30 $\pm$ 0.35) $\mu mol/L$
没食子酸	(2.44 $\pm$ 0.08) $\mu mol/L$

ND-未检测到

ND means not detected

参考文献

- [1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 [M]. 昆明: 科学出版社, 1991.
- [2] Ye H, Chen C, Hao X. The chemical constituents from *Ostryopsis nobilis* [J]. *Acta Bot Yunnan*, 1996, 18(4): 473-475.
- [3] Ito H, Li P, Yoshida T. Hydrolyzable tannins from *Ostryopsis davidiana* [J]. *Nat Med*, 2001, 55(6): 314.
- [4] Pettit G R, Herald C L, Ode R H, *et al.* The isolation of loliolide from an Indian ocean opisthobranch mollusc [J]. *J Nat Prod*, 1980, 43(6): 752-755.
- [5] Yang H, Jeong E J, Kim J, *et al.* Antiproliferative triterpenes from the leaves and twigs of *Juglans sinensis* on HSC-T6 cells [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(4): 751-756.
- [6] 原 忠, 赵梦飞, 陈发奎. 北沙参化学成分的研究 [J]. 中草药, 2002, 33(12): 1063-1065.
- [7] Smati D, Longeon A, Guyot M. 3 β -(3, 4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllum geslini* collected in the Algerian Sahara [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 95(2): 405-407.
- [8] Fuchino H, Satoh T, Tanaka N. Chemical evaluation of *Betula* species in Japan. III. Constituents of *Betula maximowicziana* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(9):

- 1748-1753.
- [9] Meagher L P, Beecher G R, Flanagan V P, *et al.* Isolation and characterization of the lignans, isolariciresinol and pinoresinol, in flaxseed meal [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47(8): 3173-3180.
- [10] 徐凯节, 白 央, 阿 萍, 等. 藏药材打箭菊的化学成分研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(11): 3018-3019.
- [11] 王洪平, 曹 芳, 杨秀伟. 头花蓼地上部分的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(1): 24-30.
- [12] Yokosuka A, Mimaki Y, Sakagami H, *et al.* New diarylheptanoids and diarylheptanoid glucosides from the rhizomes of *Tacca chantrieri* and their cytotoxic activity [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(3): 283-289.
- [13] Kaneda N, Kinghorn A, Farnsworth N, *et al.* Two diarylheptanoids and a lignan from *Casuarina junghuhniana* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(10): 3366-3368.
- [14] 陶曙红, 潘剑宇, 漆淑华. 瓶花木化学成分的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 348-350.
- [15] 曲功霖, 欧阳捷, 孔德云, 等. 蒙药胭脂花的化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1308-1310.
- [16] George S, Benny P J, Kuriakose S, *et al.* Antibiotic activity of 2, 3-dihydroxybenzoic acid isolated from *Flacourtia inermis* fruit against multidrug resistant bacteria [J]. *Asian J Pharm Clin Res*, 2011, 4(1): 126-130.
- [17] Riva S, Monti D, Luisetti M, *et al.* Enzymatic modification of natural compounds with pharmacological properties [J]. *Ann NY Acad Sci*, 1998, 864(1): 70-80.
- [18] Garcez W S, Yoshida M, Gottlieb O R. Benzylisoquinoline alkaloids and flavonols from *Ocotea vellosiana* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(4): 815-816.
- [19] Lee M W, Tanaka T, Nonaka G I, *et al.* Phenolic compounds on the leaves of *Betula platyphylla* var. *latifolia* [J]. *Arch Pharm Res*, 1992, 15(3): 211-214.
- [20] 龚运淮, 丁立生. 天然产物核磁共振 ^{13}C -NMR 碳谱分析 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2004.