

三七叶的化学成分及其抗氧化活性研究

黄积武, 李创军, 杨敬芝, 马洁, 张东明*

北京协和医学院 中国医学科学院药物研究所 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050

摘要: 目的 研究三七 *Panax notoginseng* 叶乙醇提取物的化学成分及抗氧化活性 (ABTS 和 DPPH)。方法 利用硅藻土、硅胶、MCI 柱色谱、凝胶柱色谱、中压制备液相色谱和制备液相等色谱技术进行分离纯化, 并应用质谱、核磁共振等波谱技术鉴定化合物结构。初步考察了这些化合物的抗氧化能力。**结果** 从三七叶 95%乙醇提取物的氯仿、丙酮-乙醇 (4:1) 和丙酮-乙醇 (1:1) 3 个洗脱部位中分离鉴定了 15 个化合物, 分别为 faltarinol (1)、 γ -tocopherol (2)、(5*S*)-3 α -acetyl-2,3,5-trimethyl-7 α -hydroxy-5-(4,8,12-trimethyltridecanyl)-1,3 α ,5,6,7,7 α -hexahydro-4-oxainden-1-one (3)、picrionoside B (4)、linarionoside A (5)、viburnolide A (6)、槲皮素 (7)、lilyn (8)、茵芋苷 (9)、阿彼斯基姆素 (10)、daphnin methylether (11)、20(*S*)-人参皂苷 Rh₂ (12)、人参皂苷 F₂ (13)、20(*R*)-人参皂苷 Rh₂ (14)、异人参皂苷 Rh₃ (15)。**结论** 化合物 3、6、9~11 为首次从人参属植物中分离得到, 化合物 2、4 为首次从该植物中分离得到。化合物 2、4、7、8 具有较强的抗氧化活性。**关键词:** 三七; viburnolide A; 茵芋苷; 阿彼斯基姆素; daphnin methylether; 抗氧化

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)21-4381-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.21.003

Chemical constituents from leaves of *Panax notoginseng* and anti-oxidant activity

HUANG Ji-wu, LI Chuang-jun, YANG Jing-zhi, MA Jie, ZHANG Dong-ming

State Key laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the leaves of *Panax notoginseng* and their antioxidant activity (ABTS and DPPH). **Methods** The constituents were isolated and purified by celite, silica gel, MCI and Sephadex LH-20, reversed-phase MPLC chromatographic methods, then purified by preparative HPLC. Their structures were identified on the basis of mass spectrum and NMR spectrum. Anti-oxidant activity of these compounds was initially investigated. **Results** Fifteen compounds were isolated from the chloroform, acetone-ethanol (4:1) and acetone-ethanol (1:1) fractions of 95% ethanol extract of the leaves of *P. notoginseng*, and their structures were elucidated as follows: faltarinol (1), γ -tocopherol (2), (2*S*,4 α ,5,7 α)-7 α -acetyl-3,4,4 α ,7 α -tetrahydro-4 α -hydroxy-2,6,7-trimethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl) cyclopenta [β] pyran-5 (2*H*)-one (3), picrionoside B (4), linarionoside A (5), viburnolide A (6), quercetin (7), lilyn (8), skimmmin (9), apiosylskimmmin (10), daphnin methylether (11), 20 (*S*)-ginsenoside Rh₂ (12), ginsenoside F₂ (13), 20 (*R*)-ginsenoside Rh₂ (14), and isoginsenoside Rh₃ (15). **Conclusion** Compounds 3, 6, and 9—11 are isolated from the plant of genus *Panax* for the first time, compounds 2 and 4 are isolated from this plant for the first time. Compounds 2, 4, 7, and 8 show certain anti-oxidant activity.

Key words: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; viburnolide A; skimming; apiosylskimmmin; daphnin methylether; anti-oxidant activity

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为五加科 (Araliaceae) 人参属 *Panax* L. 植物, 主产于云南文山州, 在广西、广东、福建等地也有分布, 种植于海拔 400~1 800 m 的森林下或山坡上人工棚下^[1]。三七的叶、果以及根茎均可药用, 其味甘、

微苦, 性温, 现代药理研究表明, 三七具有镇痛、抗炎、保肝利胆、抗心律失常、抗血栓等作用^[2]。从日常生活用品三七牙膏到治疗跌打损伤的云南白药以及活血祛瘀的血栓通胶囊, 三七应用广泛, 市场价值高。为了进一步寻找三七叶抗氧化活性物质,

收稿日期: 2017-07-14

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (81630094); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2016-I2M-1-010)

作者简介: 黄积武, 男, 在读硕士, 研究方向为天然产物研究。E-mail: huangjiwu@imm.ac.cn

*通信作者 张东明, 研究员, 博士生导师, 研究方向为活性天然产物的发现。Tel: (010)63165227 E-mail: zhangdm@imm.ac.cn

促进三七叶资源的开发利用,本课题组进一步对三七叶 95%乙醇提取物的氯仿、丙酮-乙醇(4:1)和丙酮-乙醇(1:1)3个洗脱部位的化学成分与抗氧化活性进行研究。

通过硅藻土柱色谱、硅胶柱色谱、MCI柱色谱、凝胶柱色谱、中压制备液相色谱、高效制备液相色谱等技术,从三七叶 95%乙醇提取物的氯仿、丙酮-乙醇(4:1)和丙酮-乙醇(1:1)3个洗脱部位中分离得到 15 个化合物,分别鉴定为 faltarinol (1)、 γ -tocopherol (2)、(5*S*)-3 α -acetyl-2,3,5-trimethyl-7 α -hydroxy-5-(4,8,12-trimethyltridecanyl)-1,3 α ,5,6,7,7 α -hexahydro-4-oxainden-1-one (3)、picrionoside B (4)、linarionoside A (5)、viburnolide A (6)、槲皮素(querletin, 7)、lilyn (8)、茵芋苷(skimmin, 9)、阿波斯基姆素 (apiosylskimmin, 10)、daphnin methylether (11)、20(*S*)-人参皂苷 Rh₂ [20(*S*)-ginsenoside Rh₂, 12]、人参皂苷 F₂ (ginsenoside F₂, 13)、20(*R*)-人参皂苷 Rh₂ [20(*R*)-ginsenoside Rh₂, 14]、异人参皂苷 Rh₃ (isoginsenoside Rh₃, 15)。其中化合物 3、6、9~11 为首次从人参属植物中分离得到,化合物 2、4 为首次从该植物中分离得到。初步考察了化合物 1~15 的抗氧化能力,其中化合物 2、4、7、8 具有较强的抗氧化活性。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司);SpectraMax M5 多功能酶标仪(美国 MD 公司);JEOL ECZ-400S(日本电子株式会社)、WNMR-I 500(武汉中科牛津波谱有限公司)和 VNS-600(布鲁克)核磁共振仪;中压制备液相色谱系统(瑞士步琦有限公司),配有 C-605 型二元梯度液相泵、C-635 型检测器、C-615 型控制单元、C-660 型馏份收集器、进样单元、C-690 型剥离色谱柱(560 mm×60 mm);LC-6AD 制备液相色谱仪(日本岛津公司);YMC-Pack ODS-A 制备柱(250 mm×20 mm, 5 μ m, 日本);柱色谱用硅胶(100~200、200~300、300~400 目,青岛海洋化工有限公司);CHP20/P120MCI 柱色谱(日本三菱公司);Sephadex LH-20 凝胶柱色谱(安发玛西亚生物技术公司);HPD-100 大孔树脂(河北沧州宝恩化工有限公司);硅藻土(国药集团化学试剂有限公司);色谱纯甲醇、乙腈(百灵威科技有限公司);分析纯石油醚、氯仿、丙酮、乙醇、甲醇(北京化工厂)。

三七叶于 2015 年 5 月采自云南省文山州,经中

国医学科学院药物研究所马林研究员鉴定为 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的叶子,其标本(ID-S-2716)储存于中国医学科学院药物研究所标本室。

2 提取与分离

干燥的三七叶 25 kg,粉碎后用 95%乙醇加热回流提取,提取液经减压浓缩,得到醇提物 5 100 g。取 3 600 g 该醇提物通过硅藻土柱色谱,分成石油醚、氯仿、丙酮、丙酮-乙醇(4:1)、丙酮-乙醇(1:1)、乙醇、甲醇 7 个部位。其中氯仿洗脱部位(200 g)过硅胶柱色谱(100~200 目),用氯仿-甲醇洗脱,共得到 8 个组分(B1~B8)。其中 B6(85 g)经过硅胶柱色谱(200~300 目),以氯仿-甲醇洗脱,获得 15 个流分(B6a~B6o),B6b(1.1 g)再经过硅胶柱色谱(300~400 目),用氯仿-醋酸乙酯洗脱,获得 36 个组分(B6b-1~B6b-36)。B6b-27 经过制备液相(95%甲醇)纯化得到化合物 2(30 mg)和 3(11 mg)。B6b-32 经过制备液相(85%乙腈)纯化得到化合物 1(25 mg)。丙酮-乙醇(4:1)洗脱部位(300 g)经过硅胶柱色谱(100~200 目)分离,以氯仿-甲醇洗脱,获得 16 个组分(D1~D16)。D10(38 g)、D12(40 g)分别经过 MCI 柱色谱,以甲醇-水洗脱,得到流分 D10a~D10g、D12a~D12f。D10c(6 g)经过中压制备液相分离后,得到 20 个流分(D10c-1~D10c-20)。D10c-13 经过制备液相(15%乙腈)纯化得到化合物 4(13 mg)。D10c-18 经过制备液相(20%乙腈)纯化得到化合物 5(103 mg)。D12b 经过中压制备液相分离后,再经过制备液相色谱(20%甲醇)纯化得到化合物 6(315 mg)。D12e(10 g)经过中压制备液相分离后,得到 20 个流分(D12e-1~D12e-21)。D12e-21 再经过 2 次制备液相色谱(45%乙腈、80%甲醇)纯化得到化合物 12(22 mg)、13(50 mg)、14(13 mg)、15(5 mg)。D14(55 g)分别经过 MCI 柱色谱,以乙醇-水洗脱,得到 3 个流分 D14a~D14c。D14c(10 g)再经过 LH-20 凝胶柱,用甲醇洗脱,得到 4 个组分 D14c1~D14c4, D14c3 用 40%甲醇制备得到化合物 7(2 mg)和 8(411 mg)。丙酮-乙醇(1:1)洗脱部位过 HPD-100 大孔树脂,用乙醇-水洗脱,得到 4 个组分 E0~E3, E2(113 g)再经过 MCI 柱色谱,以乙醇-水洗脱,得到 5 个流分 E2a~E2e。E2c(45 g)经过硅胶柱色谱(200~300 目),用氯仿-甲醇-水进行洗脱,得到 20 个组分(E2c1~E2c20),最后 E2c2 用制备液相色谱进行纯化(10%

乙腈), 得到化合物 **9** (7 mg)、**10** (9 mg) 和 **11** (1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色油状液体。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.23 (1H, dt, $J = 10.1, 1.0$ Hz, H-1a), 5.46 (1H, dt, $J = 16.9, 1.0$ Hz, H-1b), 5.93 (1H, ddd, $J = 17.0, 10.1, 5.4$ Hz, H-2), 4.91 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-3), 3.03 (2H, m, H-8), 5.37 (1H, m, H-9), 5.51 (1H, m, H-10), 2.02 (2H, m, H-11), 1.33 (2H, m, H-12), 1.26~1.40 (8H, m, H-13~16), 0.88 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-17); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 117.1 (C-1), 136.2 (C-2), 63.6 (C-3), 74.3 (C-4), 71.4 (C-5), 64.1 (C-6), 80.4 (C-7), 17.8 (C-8), 122.0 (C-9), 133.2 (C-10), 27.3 (C-11), 29.3 (C-12), 29.3 (C-13), 29.3 (C-14), 31.9 (C-15), 22.7 (C-16), 14.2 (C-17)。以上数据与文献对照基本一致^[3], 故鉴定化合物 **1** 为 falcarinol。

化合物 **2**: 黄色油状液体。HR-ESI-MS m/z : 417.373 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 显示其分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{49}\text{O}_2$ (计算值 417.372 7)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.24 (3H, s, H-2a), 1.70 (2H, dt, $J = 13.0, 6.4$ Hz, H-3), 2.66 (2H, m, H-4), 0.85 (3H, s, H-4'a), 6.36 (1H, s, H-5), 2.13 (3H, s, H-7a), 0.83 (3H, s, H-8'a), 2.11 (3H, s, H-8b), 0.87 (3H, s, H-12'a), 0.86 (3H, s, H-13'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 75.6 (C-2), 24.2 (C-2a), 31.6 (C-3), 22.5 (C-4), 118.4 (C-4a), 112.3 (C-5), 146.4 (C-6), 121.8 (C-7), 12.0 (C-7a), 125.9 (C-8), 145.9 (C-8a), 12.1 (C-8b), 40.2 (C-1'), 21.2 (C-2'), 37.6 (C-3'), 32.8 (C-4'), 19.8 (C-4'a), 37.6 (C-5'), 24.6 (C-6'), 37.4 (C-7'), 33.0 (C-8'), 19.9 (C-8'a), 37.6 (C-9'), 25.0 (C-10'), 39.5 (C-11'), 28.1 (C-12'), 22.8 (C-12'a), 22.9 (C-13')。以上数据与文献对照基本一致^[4], 故鉴定化合物 **2** 为 γ -tocopherol。

化合物 **3**: 淡黄色油状液体。HR-ESI-MS m/z : 463.379 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 显示其分子式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{51}\text{O}_4$ (计算值 463.378 2)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 1.79 (2H, dd, $J = 13.0, 7.1$ Hz, H-6), 1.90 (1H, dt, $J = 11.8, 7.1$ Hz, H-7 α), 2.43 (1H, dt, $J = 13.0, 7.2$ Hz, H-7 β), 4.72 (1H, s, 7a-OH), 2.02 (3H, s, H-2'), 1.82 (3H, s, H-3'), 1.83 (3H, s, H-4'), 1.31 (3H, s, H-5'), 0.86 (6H, d, $J = 6.7$ Hz, H-13'', 16''), 0.84 (6H, m, H-14'', 15''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 205.2 (C-1), 139.4 (C-2), 163.2 (C-3), 89.2 (C-3a), 87.2 (C-5), 36.3 (C-6), 33.0 (C-7), 92.3 (C-7a), 207.2 (C-1'), 25.0

(C-2'), 11.9 (C-3'), 8.8 (C-4'), 41.6 (C-1''), 22.6 (C-2''), 37.4 (C-3''), 32.9 (C-4''), 37.6, 37.6, 37.7 (C-5'', 7'', 9''), 24.6 (C-6''), 33.0 (C-8''), 25.0 (C-10''), 39.5 (C-11''), 28.1 (C-12''), 22.8, 22.9 (C-13'', 16''), 19.8, 19.9 (C-14'', 15'')。以上数据与文献对照基本一致^[5], 故鉴定化合物 **3** 为 (5*S*)-3 α -acetyl-2,3,5-trimethyl-7 α -hydroxy-5-(4,8,12-trimethyltridecanyl)-1,3 α ,5,6,7,7 α -hexahydro-4-oxainden-1-one。

化合物 **4**: 白色油状液体。(+)ESI-MS m/z : 395.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.71 (1H, dd, $J = 13.2, 6.8$ Hz, H-2a), 1.93 (1H, dd, $J = 13.2, 5.6$ Hz, H-2b), 5.91 (1H, s, H-4), 2.34 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-6), 5.54 (1H, ddd, $J = 15.2, 9.6, 1.2$ Hz, H-7), 5.77 (1H, dd, $J = 15.2, 6.0$ Hz, H-8), 1.46 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-10), 0.80 (3H, s, H-11), 1.05 (3H, s, H-12), 1.60 (3H, s, H-13), 5.03 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.01 (2H, overlapped, H-2', 5'), 4.30 (2H, overlapped, H-3', 4'), 4.58 (2H, m, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 54.8 (C-1), 33.8 (C-2), 41.3 (C-3), 73.1 (C-4), 124.9 (C-5), 137.8 (C-6), 128.0 (C-7), 140.0 (C-8), 68.1 (C-9), 24.7 (C-10), 25.1 (C-11), 29.8 (C-12), 23.2 (C-13), 103.5 (C-1'), 75.7 (C-2'), 79.1 (C-3'), 72.2 (C-4'), 78.9 (C-5'), 63.3 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[6], 故鉴定化合物 **4** 为 picrionoside B。

化合物 **5**: 白色粉末, (+)ESI-MS m/z : 397.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 1.04 (1H, s, H-2a), 1.70 (1H, s, H-2b), 2.07 (1H, s, H-7a), 2.48 (1H, s, H-7b), 1.70 (1H, s, H-8), 3.60 (1H, s, H-9), 1.38 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-10), 0.98 (3H, s, H-11), 1.04 (3H, s, H-12), 1.64 (3H, s, H-13), 5.06 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.02 (2H, overlapped, H-2', 5'), 4.28 (2H, overlapped, H-3', 4'), 4.55 (2H, m, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.0 (C-1), 47.1 (C-2), 71.8 (C-3), 39.6 (C-4), 124.1 (C-5), 138.0 (C-6), 25.2 (C-7), 40.8 (C-8), 67.7 (C-9), 24.2 (C-10), 28.5 (C-11), 30.3 (C-12), 20.0 (C-13), 102.5 (C-1'), 75.4 (C-2'), 78.7 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.5 (C-5'), 62.9 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为 linarionoside A。

化合物 **6**: 白色粉末; (+)ESI-MS m/z : 507.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 2.91 (1H, dd, $J = 17.4, 8.9$ Hz, H-3a), 3.11 (1H, dd, $J = 17.4, 12.8$ Hz, H-3b), 4.81 (1H, dd, $J = 12.8, 9.2$ Hz, H-4), 4.01

(1H, s, H-8), 4.06 (1H, dd, $J = 8.4, 2.6$ Hz, H-11a), 4.35 (2H, overlapped, H-11b, 12), 7.25 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-14, 18), 6.78 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-15, 17), 4.89 (1H, overlapped, H-1'), 3.45 (2H, overlapped, H-2', 3'), 3.29 (1H, m, H-5'), 3.78 (2H, m, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 176.2 (C-2), 34.2 (C-3), 45.0 (C-4), 91.0 (C-5), 172.1 (C-6), 89.0 (C-8), 109.1 (C-9), 77.5 (C-11), 74.6 (C-12), 124.3 (C-13), 131.3 (C-14, C-18), 159.1 (C-16), 116.7 (C-15, C-17), 97.5 (C-1'), 74.7 (C-2'), 77.8 (C-3'), 70.6 (C-4'), 78.1 (C-5'), 61.4 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为 viburnolide A。

化合物 **7**: 黄色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.18 (1H, s, H-6), 6.41 (1H, s, H-8), 7.66 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 8.4$, H-5'), 7.53 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6'), 9.34 (2H, brs, 3, 4'-OH), 9.67 (1H, s, 3'-OH), 10.79 (1H, brs, 7-OH), 12.48 (1H, s, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 146.8 (C-2), 135.8 (C-3), 175.9 (C-4), 160.7 (C-5), 98.2 (C-6), 163.9 (C-7), 93.4 (C-8), 156.2 (C-9), 103.0 (C-10), 122.0 (C-1'), 115.1 (C-2'), 145.1 (C-3'), 147.7 (C-4'), 115.6 (C-5'), 120.0 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为槲皮素。

化合物 **8**: 黄色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.14 (1H, s, H-6), 6.34 (1H, s, H-8), 8.04 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.86 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 5.31 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, gal-H-1''), 4.02 (1H, dd, $J = 9.6, 7.2$ Hz, gal-H-2''), 4.72 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, glc-H-1'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 158.8 (C-2), 134.9 (C-3), 179.8 (C-4), 163.0 (C-5), 99.8 (C-6), 165.8 (C-7), 94.7 (C-8), 158.4 (C-9), 105.7 (C-10), 122.7 (C-1'), 132.4 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 161.5 (C-4'), 101.5 (gal-C-1''), 80.2 (gal-C-2''), 74.8 (gal-C-3''), 70.0 (gal-C-4''), 76.9 (gal-C-5''), 62.6 (gal-C-6''), 104.7 (glc-C-1'''), 75.4 (glc-C-2'''), 77.9 (glc-C-3'''), 71.3 (glc-C-4'''), 78.2 (glc-C-5'''), 61.9 (glc-C-6'')。以上数据与文献对照基本一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为 lilyn。

化合物 **9**: 白色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.32 (1H, m, H-3), 8.00 (1H, m, H-4), 7.64 (1H, m, H-5), 7.01 (1H, m, H-6), 7.05 (1H, s, H-8), 5.03 (1H, m, glc-H-1'), 3.28 (2H, overlapped,

glc-H-2', 3'), 3.17 (1H, m, glc-H-4'), 3.45 (2H, m, glc-H-5', 6'a), 3.71 (1H, m, glc-H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 160.2 (C-2, 7), 113.3 (C-3), 144.2 (C-4), 113.1 (C-4a), 129.4 (C-5), 113.6 (C-6), 155.0 (C-8a), 103.2 (C-8), 100.0 (glc-C-1'), 73.1 (glc-C-2'), 77.1 (glc-C-3'), 69.6 (glc-C-4'), 76.5 (glc-C-5'), 60.7 (glc-C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为茵芋苷。

化合物 **10**: 白色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.33 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 8.00 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.65 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-5), 7.02 (2H, s, H-6, 8), 5.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, glc-H-1'), 3.29 (1H, overlapped, glc-H-2'), 3.29 (1H, overlapped, glc-H-3'), 3.12 (1H, m, glc-H-4'), 3.59 (1H, overlapped, glc-H-5'), 3.45 (1H, dd, $J = 11.0, 7.0$ Hz, glc-H-6'a), 3.88 (1H, overlapped, glc-H-6'b), 4.79 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, api-H-1''), 3.74 (1H, overlapped, api-H-2''), 3.59 (1H, overlapped, api-H-4''a), 3.88 (1H, overlapped, api-H-4''b), 3.29 (1H, overlapped, api-H-5''a), 3.37 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, api-H-5''b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 160.2 (C-2), 113.4 (C-3), 144.2 (C-4), 129.5 (C-5), 113.4 (C-6), 160.1 (C-7), 103.3 (C-8), 155.0 (C-9), 113.2 (C-10), 99.9 (glc-C-1'), 72.9 (glc-C-2'), 76.2 (glc-C-3'), 69.7 (glc-C-4'), 75.5 (glc-C-5'), 67.6 (glc-C-6'), 109.3 (api-C-1''), 75.8 (api-C-2''), 78.6 (api-C-3''), 73.3 (api-C-4''), 63.1 (api-C-5'')。以上数据与文献对照基本一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为阿彼斯基姆素。

化合物 **11**: 黄色粉末; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.34 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.99 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.40 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 7.19 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6), 5.03 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, glc-H-1'), 3.88 (3H, s, OCH_3), 3.28 (2H, overlapped, glc-H-2', 3'), 3.17 (1H, m, glc-H-4'), 3.45 (2H, overlapped, glc-H-5', 6'a), 3.71 (1H, m, glc-H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 159.7 (C-2), 112.3 (C-3), 144.4 (C-4), 123.1 (C-5), 113.3 (C-6), 153.1 (C-7), 135.7 (C-8), 147.3 (C-9), 114.1 (C-10), 100.4 (glc-C-1'), 73.1 (glc-C-2'), 77.1 (glc-C-3'), 69.5 (glc-C-4'), 76.6 (glc-C-5'), 60.5 (glc-C-6'), 60.9 (OCH_3)。以上数据与文献对照基本一致^[13], 故鉴定化合物 **11** 为 daphnin methylether。

化合物 **12**: 淡黄色粉末, (+)-ESI-MS m/z : 645.3

$[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) 显示了原人参二醇型三萜类化合物特征的 8 个甲基信号 δ : 0.83 (CH_3), 0.98 ($2CH_3$), 1.02 (CH_3), 1.34 (CH_3), 1.45 (CH_3), 1.64 (CH_3), 1.67 (CH_3)。 δ : 3.41~5.34 主要为糖上质子信号。此外 1H -NMR 还给出了糖的端基信号 4.98 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, glc-H-1'); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 39.5 (C-1), 27.5 (C-2), 89.2 (C-3), 40.4 (C-4), 56.7 (C-5), 18.8 (C-6), 36.3 (C-7), 37.3 (C-8), 50.8 (C-9), 40.0 (C-10), 31.7 (C-11), 71.2 (C-12), 48.9 (C-13), 52.1 (C-14), 31.2 (C-15), 27.1 (C-16), 55.2 (C-17), 17.2 (C-18), 16.7 (C-19), 73.3 (C-20), 27.2 (C-21), 35.5 (C-22), 23.4 (C-23), 126.7 (C-24), 130.7 (C-25), 26.2 (C-26), 18.0 (C-27), 28.5 (C-28), 16.2 (C-29), 17.4 (C-30), 107.3 (glc-C-1'), 76.1 (glc-C-2'), 79.1 (glc-C-3'), 72.2 (glc-C-4'), 78.7 (glc-C-5'), 63.4 (glc-C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[14], 故鉴定化合物 **12** 为 20 (*S*)-人参皂苷 Rh_2 。

化合物 **13**: 白色粉末, (+)-ESI-MS m/z : 807.3 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 3.36 (1H, m, H-3 α), 0.72 (1H, s, H-5 α), 3.93 (1H, s, H-12 α), 0.97 (3H, s, H-18), 0.81 (3H, s, H-19), 1.62 (3H, s, H-21), 5.21 (2H, overlapped, H-24, glc-H-1'), 1.59 (6H, s, H-26, 27), 1.31 (3H, s, H-28), 1.00 (3H, s, H-29), 0.95 (3H, s, H-30), 4.94 (1H, m, glc-H-1"); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ : 39.3 (C-1), 26.8 (C-2), 88.9 (C-3), 39.7 (C-4), 56.4 (C-5), 18.5 (C-6), 35.2 (C-7), 40.1 (C-8), 50.2 (C-9), 37.0 (C-10), 31.0 (C-11), 70.2 (C-12), 49.5 (C-13), 51.5 (C-14), 30.8 (C-15), 26.7 (C-16), 51.7 (C-17), 16.0 (C-18), 16.7 (C-19), 83.4 (C-20), 22.4 (C-21), 36.2 (C-22), 23.3 (C-23), 126.0 (C-24), 131.0 (C-25), 25.8 (C-26), 17.8 (C-27), 28.2 (C-28), 16.3 (C-29), 16.9 (C-30), 107.0 (glc-C-1'), 75.8 (glc-C-2'), 78.8 (glc-C-3'), 72.0 (glc-C-4'), 78.3 (glc-C-5'), 63.2 (glc-C-6'), 98.3 (glc-C-1"), 75.2 (glc-C-2"), 79.3 (glc-C-3"), 71.7 (glc-C-4"), 78.4 (glc-C-5"), 62.9 (glc-C-6")。以上数据与文献对照基本一致^[15], 故鉴定化合物 **13** 为人参皂苷 F_2 。

化合物 **14**: 淡黄色粉末, (+)-ESI-MS m/z : 645.3 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) 显示 8 个甲基信号 δ_H 1.71 (CH_3), 1.67 (CH_3), 1.41 (CH_3), 1.34 (CH_3), 1.03 (CH_3), 0.84 (CH_3), 1.02 ($2 \times CH_3$), 1 个糖上的端基氢信号 δ_H 4.97 (1H, d, $J = 7.6$ Hz,

glc-H-1'); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 39.2 (C-1), 26.8 (C-2), 88.9 (C-3), 40.1 (C-4), 56.4 (C-5), 18.6 (C-6), 35.3 (C-7), 37.0 (C-8), 50.5 (C-9), 39.8 (C-10), 32.3 (C-11), 71.0 (C-12), 49.3 (C-13), 51.9 (C-14), 31.5 (C-15), 26.7 (C-16), 50.7 (C-17), 16.9 (C-18), 16.5 (C-19), 73.1 (C-20), 22.9 (C-21), 43.4 (C-22), 22.7 (C-23), 126.1 (C-24), 130.9 (C-25), 25.9 (C-26), 17.4 (C-27), 28.2 (C-28), 15.9 (C-29), 17.8 (C-30), 107.1 (glc-C-1'), 75.9 (glc-C-2'), 78.8 (glc-C-3'), 72.0 (glc-C-4'), 78.5 (glc-C-5'), 63.1 (glc-C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[16-17], 故鉴定化合物 **14** 为 20 (*R*)-人参皂苷 Rh_2 。

化合物 **15**: 白色粉末; HR-ESI-MS m/z : 627.423 3 $[M+Na]^+$, 显示其分子式为 $C_{36}H_{60}NaO_7$ (计算值 627.423 1); 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) 显示 8 个甲基信号 δ_H 1.84, 1.64, 1.59, 1.33, 1.03, 1.01, 0.98, 0.83, 糖上的氢信号 δ_H 4.97 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, glc-H-1'), 4.06 (2H, overlapped, glc-H-2', 5'), 4.26 (2H, overlapped, glc-H-3', 4'), 4.43 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, glc-H-6'a), 4.62 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, glc-H-6'b); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 39.2 (C-1), 26.7 (C-2), 88.7 (C-3), 39.7 (C-4), 56.4 (C-5), 18.4 (C-6), 35.3 (C-7), 40.2 (C-8), 50.7 (C-9), 37.0 (C-10), 32.2 (C-11), 72.5 (C-12), 50.9 (C-13), 51.0 (C-14), 32.6 (C-15), 28.8 (C-16), 50.6 (C-17), 15.8 (C-18), 16.4 (C-19), 140.1 (C-20), 13.2 (C-21), 124.2 (C-22), 27.4 (C-23), 124.5 (C-24), 131.2 (C-25), 25.7 (C-26), 17.7 (C-27), 28.1 (C-28), 16.8 (C-29), 17.0 (C-30), 107.0 (glc-C-1'), 75.8 (glc-C-2'), 78.8 (glc-C-3'), 71.9 (glc-C-4'), 78.4 (glc-C-5'), 63.1 (glc-C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[18-19], 故鉴定化合物 **15** 为异人参皂苷 Rh_3 。

4 抗氧化活性研究

4.1 ABTS 自由基清除实验

设 3 个实验组: 空白组 (25 μL 无水乙醇 + 25 μL ABTS 溶液)、样品组 (25 μL 待测样品 + 25 μL ABTS 自由基溶液)、本底组 (25 μL 待测样品 + 25 μL 蒸馏水), 各组进行 ABTS [2,2-联氨-双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二胺盐] 自由基清除实验^[20], 吸取各组相关溶液进行混合, 避光反应 30 min, 在 734 nm 波长下测定吸光度 (A) 值。ABTS 自由基清除率 = $1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{本底}}) / A_{\text{空白}}$ 。用 GraphPad Prism 6 计算化合物的半数抑制浓度 (IC_{50}) 值。结果见表 1。

4.2 DPPH 自由基清除实验

设3个实验组:空白组(25 μL 无水乙醇+25 μL DPPH 溶液)、样品组(25 μL 待测样品+25 μL DPPH 溶液)、本底组(25 μL 待测样品+25 μL 无水乙醇)。各组进行 DPPH (1,1-二苯基-2-三硝基苯肼) 自由基清除实验^[20]。吸取各组相关溶液进行混合,避光反应 30 min,在 517 nm 波长下测定 A 值。DPPH 自由基清除率 $=1-(A_{\text{样品}}-A_{\text{本底}})/A_{\text{空白}}$ 。用 GraphPad Prism 6 计算化合物的 IC_{50} 值。结果见表 1。

表 1 化合物 2、4、7、8 清除 ABTS 及 DPPH 自由基的能力 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 ABTS and DPPH free radical-scavenging activity of compounds 2, 4, 7, and 8 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物	$\text{IC}_{50}/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	
	ABTS	DPPH
2	$(1.80 \pm 0.15) \times 10^{-4}$	$(1.83 \pm 0.15) \times 10^{-5}$
4	$> 1.00 \times 10^{-4}$	$(6.92 \pm 0.86) \times 10^{-6}$
7	$(1.82 \pm 0.12) \times 10^{-5}$	$(8.86 \pm 0.27) \times 10^{-6}$
8	$(3.69 \pm 0.45) \times 10^{-4}$	$(2.56 \pm 1.10) \times 10^{-4}$
没食子酸	$(1.08 \pm 0.03) \times 10^{-5}$	$(2.30 \pm 0.18) \times 10^{-6}$

结果显示,化合物 2、4、7、8 均具有较强的抗氧化作用,其中化合物 7 的 ABTS 自由基清除作用与没食子酸相当;化合物 4 和 7 的 DPPH 自由基清除作用与没食子酸相当。

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 [M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- [2] 郭红英. 三七的化学成分和药理作用研究 [J]. 医学信息, 2016, 29(32): 99-100.
- [3] Kazuhiro H, Makoto M, Kazuaki N, *et al.* Linoleoylated polyacetylenes from the root of *Panax ginseng* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(4): 963-967.
- [4] Seo K H, Lee D Y, Nam T G, *et al.* New tocopherol analogue with radical-scavenging activity from the peels of *Citrus unshiu* Marcovich [J]. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 2013, 56(6): 747-750.
- [5] Motohiko U, Toshihiro A, Harukuni T, *et al.* Isolation, structural elucidation, and inhibitory effects of terpenoid and lipid constituents from sunflower pollen on Epstein-Barr virus early antigen induced by tumor promoter, TPA [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(10):

2949-2957.

- [6] Taketo U, Keiichi N, Toshio M, *et al.* Terpenoid glycosides from *Picris hieracioides* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(9): 2947-2951.
- [7] 王金辉, 李 锐. 加拿大产西洋参茎叶中一种 ionol 型葡萄糖苷 [J]. 中国药物化学杂志, 1998, 8(3): 201-202.
- [8] Machida K, Kikuchi M. Studies on the constituents of *Viburnum* species. VIII. γ -Lactone glycosides from the leaves of *Viburnum wrightii* MIQ [J]. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(7): 1388-1392.
- [9] Wu T, Abdulla T, Yang Y, *et al.* Flavonoids from *Gossypium hirsutum* flowers [J]. *Chem Nat Compd*, 2008, 44(3): 370-371.
- [10] Nagy E, Seres I, Verzár-Petri G, *et al.* Kaempferol 3- O - $[\beta$ - D -glucopyranosyl (1-2) β - D -galactopyranoside]. A new flavonoid from *Lilium candidum* L. [J]. *Z Naturforsch B*, 1984, 39(12): 1813-1815.
- [11] 戴灵超, 斯建勇, 刘琰璐, 等. 黄槿落叶化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(7): 900-902.
- [12] 时 静, 杨敬芝, 李创军, 等. 圆坠绣球化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(22): 3007-3009.
- [13] Ogawa M, Ito A, Takase Y, *et al.* Studies on the constituents of *Ericaceae* plants (Part IX): Studies on the constituents of *Enkianthus Campanulatus* (Miquel) Nicholson subsp. *longilobus* (Nakai) Kitamura and consideration on the chemotaxonomy of genus *Enkianthus* plants [J]. *Shoyakugaku Zasshi*, 1986, 40(4): 393-396.
- [14] 姜永涛, 陈继永, 马双刚, 等. 西洋参总皂苷碱降解产物的分离及结构鉴定 [J]. 烟台大学学报: 自然科学与工程版, 2006, 19(2): 142-147.
- [15] 杨秀伟, 李珂珂, 周琪乐. 人参茎叶中 1 个新皂 20 (S)-人参皂苷 Rf_2 [J]. 中草药, 2015, 46(21): 3137-3145.
- [16] 陈英杰, 徐绥绪, 马启凤, 等. 人参叶微量新成分的研究 [J]. 药学学报, 1987, 22(9): 685-689.
- [17] 徐 光, 阮 征, 白 景, 等. 人参皂苷 Rh_2 的 C-20 构型确证 [J]. 中国现代医生, 2013, 51(14): 50-52.
- [18] Wang J Y, Li X G, Zheng Y N, *et al.* Isoginsenoside- Rh_3 , a new triterpenoid saponin from the fruits of *Panax ginseng* C. A. Mey [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2004, 6(4): 289-293.
- [19] 贾继明, 王宗权. 西洋参总皂苷乙酸水解产物的化学成分研究 (I) [J]. 中草药, 2009, 40(8): 1204-1207.
- [20] Pimentel-González D J, Jiménez-Alvarado R, Hernández-Fuentes A D, *et al.* Potentiation of bioactive compounds and antioxidant activity in artisanal honeys using specific heat treatments [J]. *J Food Biochem*, 2015, 40(1): 47-52.