

广金钱草种子的化学成分和 DPPH 自由基清除活性研究

杨全^{1,2}, 程轩轩¹, 郭楚楚¹, 唐晓敏¹, 张春荣¹, 黄璐琦^{2*}

1. 广东药学院中药学院, 广东 广州 510006

2. 中国中医科学院 中药资源中心, 北京 100700

摘要:目的 对广金钱草 *Desmodium styracifolium* 种子的化学成分及其清除 DPPH 自由基活性进行研究。方法 采用硅胶、聚酰胺、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等色谱方法进行分离纯化, 通过 NMR、MS 等波谱数据进行结构鉴定。比较不同极性提取物总黄酮的量及其对 DPPH 自由基的清除活性。结果 从广金钱草种子的不同极性萃取部位中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为豆甾醇(1)、邻苯二甲酸二正丁酯(2)、儿茶素(3)、苯甲酸(4)、麦芽酚(5)、3-O-乙酰基(-)-表儿茶素(6)阿福豆苷(7)、3'-甲氧基-表儿茶素(8)、山柰酚-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(9)、槲皮素-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(10)。结论 其中化合物 4~6、8 为首次从山蚂蝗属植物中分离得到, 化合物 2、3、7、9 为首次从广金钱草中分离得到。广金钱草种子的各段萃取物均表现出一定的 DPPH 自由基清除活性。

关键词: 广金钱草; DPPH; 儿茶素; 3-O-乙酰基(-)-表儿茶素; 3'-甲氧基-表儿茶素

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)17-2517-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.17.004

Chemical constituents from seeds of *Desmodium styracifolium* and their scavenging activity of DPPH free radicals

YANG Quan^{1,2}, CHENG Xuan-xuan¹, GUO Chu-chu¹, TANG Xiao-min¹, ZHANG Chun-rong¹, HUANG Lu-qi²

1. School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the seeds of *Desmodium styracifolium* and their activity of scavenging DPPH free radicals. **Methods** The compounds were isolated and purified by various column chromatographic techniques (silica gel, polyamide, sephadex LH-20, etc) and their structures were elucidated by MS and NMR spectral analyses. The activities of scavenging DPPH free radicals from different extracts from the seeds of *D. styracifolium* were compared. **Results** Ten compounds were isolated and identified from the seeds of *D. styracifolium*, including stigmasterol (1), dibutyl phthalate (2), (+)-catechin (3), benzoic acid (4), 3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone (5), 3-O-acetyl (-)-epicatechin (6), afzelin (7), 3'-O-methyl epicatechin (8), kaempferol-7-O-β-D-glucopyranoside (9), and quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside (10). **Conclusion** Compounds 4-6 and 8 are isolated from the plants of *Desmodium* Desv. for the first time. Compounds 2, 3, 7, and 9 are isolated from *D. styracifolium* for the first time. The different extracts from the seeds of *D. styracifolium* exhibit the certain activity of scavenging DPPH free radicals.

Key words: *Desmodium styracifolium* (Osborne) Merr.; DPPH; (+)-catechin; 3-O-acetyl (-)-epicatechin; 3'-O-methyl epicatechin

广金钱草 *Desmodium styracifolium* (Osborne) Merr. 为豆科山蚂蝗属植物, 半灌木状草本, 分布于福建、湖南、广西和广东等省区。其干燥地上部分入药, 具有利湿退黄、利尿通淋之功效, 可治疗黄疸尿赤、热淋、石淋、小便涩痛、水肿尿少等症^[1]。作为防治尿石症的常用传统中药, 广金钱草是一种有着显著药理作用、临床疗效及广阔开发前景的广东道地

药材。植物化学研究表明广金钱草主要含有黄酮、生物碱、酚类、鞣质、多糖等成分^[2]。现代药理研究已证实广金钱草总黄酮能明显增加小鼠心肌营养性血流量、在体狗冠脉及脑血流量和小鼠常压缺氧耐受力, 可缓解家兔离体血管条痉挛; 在体外还能显著抑制血小板聚集和血栓形成^[3]。但是目前的研究都集中在广金钱草地上部分, 对其种子的研究仅

收稿日期: 2015-06-20

作者简介: 杨全(1972—), 男, 教授, 研究方向为中药规范化生产及地道药材质量研究。Tel: (020)39352353 E-mail: yangquan7208@vip.163.com

*通信作者 黄璐琦, 男, 研究员, 主要从事中药资源学和分子生药学研究。Tel: (010)64014411-2955 E-mail: huangluqi@263.net

限于发芽实验和质量标准的初步建立。本实验通过测定广金钱草种子提取物中总黄酮的量及其对 1,1-二苯基-2-苦基肼自由基 (DPPH) 的清除能力来评估其抗氧化活性, 并对其化学成分进行系统分离鉴定, 为广金钱草扩大药用部位、综合开发利用提供科学依据。从广金钱草种子醇提物的不同萃取部位共分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为豆甾醇 (stigmaterol, 1)、邻苯二甲酸二正丁酯 (dibutyl phthalate, 2)、儿茶素 [(+)-catechin, 3]、苯甲酸 (benzoic acid, 4)、麦芽酚 (3-hydroxy-2-methyl-4-pyrone, 5)、3-*O*-乙酰基-(-)-表儿茶素 [3-*O*-acetyl (-)-epicatechin, 6]、阿福豆昔 (afzelin, 7)、3'-甲氧基-表儿茶素 (3'-*O*-methyl-epicatechin, 8)、山柰酚-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (kaempferol-7-*O*-β-*D*-glucopyranoside, 9)、槲皮素-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷 (quercetin-3-*O*-β-*D*-glucopyranoside, 10)。其中化合物 4~6、8 为首次从山蚂蝗属植物中分离得到, 化合物 2、3、7、9 为首次从广金钱草中分离得到。

1 仪器与材料

DLSB-10/10 型低温冷却液循环泵 (广州星烁仪器有限公司); UV-2450 紫外分光光度计 (日本岛津公司); FA2204B 电子天平 (上海精科天美科学仪器有限公司); PHS-25 型数字 pH 计 (上海盛磁仪器有限公司); Bruker AVANCE III 500 MHz 型全数字化超导核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司); 液质联用仪 Waters/Micromass Q-tof LC/MS/MS (美国 Waters 公司); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄、柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目) 为青岛海洋化工厂生产; 反相硅胶 RP-C₁₈ (日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (GE healthcare Bio-Sciences); 山柰酚 (成都普思生物科技有限公司, 质量分数 >98.5%, 批号 F0440313); 维生素 C (VC, 天津市大茂化学试剂厂, 质量分数 >99%, 批号 20130110); DPPH (上海麦克林公司, 批号 C10009796); 石油醚、氯仿、正丁醇、乙醇等有机试剂均为分析纯 (天津百世试剂公司)。

广金钱草种子购于广西玉林中药材市场, 经广东药学院杨全教授鉴定为豆科植物广金钱草 *Desmodium styracifolium* (Os.) Merr. 的干燥成熟种子。标本 (20121112DS) 保存于广东药学院中药学院。

2 方法

2.1 样品的制备

广金钱草干燥种子 15 kg, 粉碎后用 95%乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液, 减压浓缩成

浸膏, 加适量蒸馏水混悬, 依次用石油醚、氯仿和正丁醇多次萃取, 各部分萃取液减压浓缩, 得石油醚部位 (34 g)、氯仿部位 (171 g)、正丁醇部位 (664 g) 及水相部位 (893 g)。

2.2 粗提物总黄酮的检测

2.2.1 供试品溶液制备 分别精密称取氯仿萃取物 63.5 mg、正丁醇萃取物 45.2 mg、水相浸膏 175 mg, 以 70%乙醇溶解, 分别定容于 25 mL 量瓶中, 4 °C 冷藏, 待用。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取山柰酚 5.0 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用 70%乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用。

2.2.3 总黄酮的测定 参考并改进文献方法^[4], 分别精密吸取“2.2.2”项下溶液 0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mL 于 10 mL 量瓶中, 先加入 0.1 mol/L AlCl₃ 溶液 2 mL, 摇匀放置 6 min, 再加入 NaAc-HAc 缓冲液 (pH 5.2) 1 mL, 用 70%乙醇定容, 室温放置 15 min, 于 417 nm 处测吸光度 (*A*) 值。每个样品平行测定 3 次。以对照品质量浓度为横坐标 (*X*), *A* 为纵坐标 (*Y*), 绘制标准曲线。

精密量取“2.2.1”项下的供试品溶液各 2 mL 置于 10 mL 量瓶中, 按照上述方法测定 *A* 值, 由标准曲线计算萃取物中总黄酮的量。

2.3 抗氧化活性研究

2.3.1 DPPH 储备液的配制 精密称取 DPPH 17.5 mg, 用无水乙醇溶解并定容至 50 mL, 摇匀, 4 °C 冷藏, 备用。

2.3.2 VC 溶液的配制 精密称取 VC 241.8 mg, 70%乙醇定容至 50 mL, 按一定浓度梯度依次稀释, 再分别吸取 VC 溶液 1.5 mL, 按“2.3.4”项下方法测定。

2.3.3 供试品溶液的配制 将“2.2.1”项下的各供试品溶液分别按照一定浓度梯度依次稀释, 再分别吸取 1.5 mL 样品溶液, 按照“2.3.4”项下方法测定。

2.3.4 自由基清除率测定方法 参照 Lee 等^[5]方法, 改进的反应体系为比色管中依次加入不同质量浓度的样品溶液 1.5 mL 及“2.3.1”项下的 DPPH 乙醇溶液 0.5 mL, 70%乙醇补充体积至 10 mL。室温避光 30 min 后, 于 519 nm 处测 *A* 值, 平行操作 3 次, 按照公式和回归方程分别计算自由基清除率和半数清除率 (IC₅₀)。

$$\text{DPPH 清除率} = 1 - (A_1 - A_j) / A_0$$

*A*₁ 为样品 + DPPH 吸光度的平均值; *A*_{*j*} 为样品溶液吸光度的平均值; *A*₀ 为 DPPH 吸光度的平均值

2.4 提取与分离

取“2.1”项下石油醚浸膏(34 g)用硅胶柱色谱粗分,经石油醚-醋酸乙酯(9:1→2:8)梯度洗脱,得到8个部分(PE.1~8)。PE.6经硅胶分离得化合物**1**(55.1 mg)。PE.7经硅胶分离得化合物**2**(5.7 mg)。PE.8经硅胶、Sephadex LH-20分离纯化得化合物**3**(91.5 mg)。

氯仿浸膏(171 g)用硅胶柱色谱粗分,经氯仿-甲醇(10:0→5:5)梯度洗脱,得到6个部分(Ch.1~6)。Ch.1经硅胶、Sephadex LH-20分离纯化得化合物**4**(61.2 mg)、**5**(8.1 mg)。Ch.2经硅胶、Sephadex LH-20分离纯化得化合物**6**(7.4 mg)。Ch.3经过 ODS 反、正相硅胶、Sephadex LH-20 分离纯化得化合物**7**(4.1 mg)。

正丁醇浸膏(664 g)经 ODS 反相硅胶柱色谱分离得到33个部分(Bu.1~33)。Bu.16经硅胶、Sephadex LH-20分离纯化得化合物**8**(8 mg)和**9**(5 mg)。Bu.19经硅胶、聚酰胺、Sephadex LH-20分离纯化得化合物**10**(41.5 mg)。

3 结果

3.1 粗提物中总黄酮的量

山柰酚标准曲线的回归方程为 $Y=80.876 X+$

$0.022 0 (R^2=0.999 7)$, 在 $4\sim 9 \mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内线性关系良好。石油醚、氯仿、正丁醇和水相部位的总黄酮量分别为 4.74、10.99、26.64 和 2.33 mg/g。

3.2 抗氧化活性

以样品溶液质量浓度为横坐标(X), DPPH 自由基清除率(Y)为纵坐标绘制曲线(图 1),并计算 IC_{50} 值(表 1)。抗氧化活性测定结果提示广金钱草种子提取物具有一定的抗氧化活性,为探讨其抗氧化作用的物质基础,继续对种子的化学成分进行了系统分离。

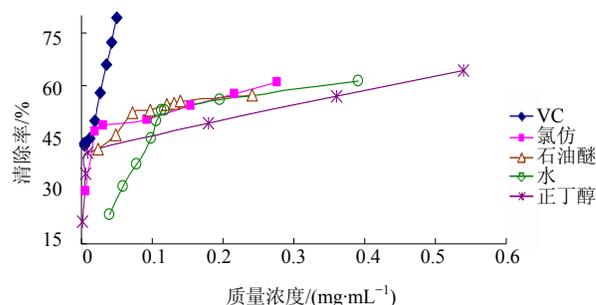


图 1 各样品对 DPPH 自由基清除力随质量浓度变化曲线
Fig. 1 DPPH scavenging curves of each sample with change of concentration

表 1 各样品对 DPPH 自由基的 IC_{50}

Table 1 Scavenging IC_{50} of each sample on DPPH free radical

样品	线性回归方程	R^2	$IC_{50}/(\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1})$
VC	$Y=944.02 X+32.605$	0.997 9	0.018 4
氯仿部位	$Y=49.871 X+46.574$	0.997 1	0.068 7
石油醚部位	$Y=118.43 X+39.679$	0.994 3	0.087 1
水相部位	$Y=393.48 X+7.953 1$	0.996 3	0.106 9
正丁醇部位	$Y=41.517 X+41.390$	0.996 7	0.207 4

3.3 结构鉴定

化合物**1**: 无色针晶。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.32 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-6), 5.13 (1H, dd, $J=15.0, 9.0$ Hz, H-22), 5.00 (1H, dd, $J=15.0, 8.5$ Hz, H-23), 3.57~3.47 (1H, m, H-3), 1.00 (3H, d, $J=5.0$ Hz, H-21), 0.98 (3H, s, H-19), 0.82 (3H, d, $J=4.0$ Hz, H-27), 0.79 (3H, t, $J=7.5$ Hz, H-29), 0.78 (3H, d, $J=7.5$ Hz, H-26), 0.67 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 37.2 (C-1), 31.6 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4), 140.7 (C-5), 121.7 (C-6), 31.9 (C-7), 31.9 (C-8), 50.1 (C-9), 36.5 (C-10), 21.1 (C-11), 39.7 (C-12), 42.2 (C-13), 56.9 (C-14), 24.4 (C-15), 28.9

(C-16), 55.9 (C-17), 12.0 (C-18), 19.4 (C-19), 40.5 (C-20), 21.2 (C-21), 138.3 (C-22), 129.3 (C-23), 51.2 (C-24), 31.9 (C-25), 21.1 (C-26), 19.0 (C-27), 25.4 (C-28), 12.2 (C-29)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物**1**为豆甾醇。

化合物**2**: 无色油状液体, ESI-MS m/z : 301.14 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.70 (2H, dd, $J=3.5, 6.0$ Hz, H-3, 6), 7.51 (2H, dd, $J=3.5, 5.5$ Hz, H-4, 5), 4.29 (4H, t, $J=6.5$ Hz, H-1', 1''), 1.71 (4H, m, H-2', 2''), 1.42 (4H, m, H-3', 3''), 0.95 (6H, t, $J=7.0$ Hz, H-4', 4''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 167.8 (C-1, 8), 132.1 (C-2, 7),

130.9 (C-4, 5), 128.9 (C-3, 6), 65.6 (C-1', 1''), 30.5 (C-2', 2''), 19.2 (C-3', 3''), 13.7 (C-4', 4'')。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **2** 为邻苯二甲酸二正丁酯。

化合物 **3**: 白色粉末。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.23 (1H, s, 5-OH), 8.99 (1H, s, 3'-OH), 8.89 (1H, s, 4'-OH), 6.72 (1H, s, H-2'), 6.68 (1H, dd, $J = 5.0, 8.0$ Hz, H-6'), 6.60 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 5.89 (1H, s, H-8), 5.69 (1H, s, H-6), 4.48 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-2), 3.82 (1H, m, H-3), 2.65 (1H, dd, $J = 5.0, 16.0$ Hz, H-4a), 2.35 (1H, dd, $J = 8.0, 16.0$ Hz, H-4b); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 81.1 (C-2), 66.5 (C-3), 28.0 (C-4), 156.4 (C-5), 95.3 (C-6), 156.6 (C-7), 94.0 (C-8), 155.5 (C-9), 99.2 (C-10), 130.8 (C-1'), 114.6 (C-2'), 145.0 (C-3', 4'), 115.3 (C-5'), 118.6 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **3** 为儿茶素。

化合物 **4**: 无色片状晶体。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 10.71 (1H, brs, OH), 8.15 (2H, dd, $J = 1.0, 8.5$ Hz, H-2, 6), 7.63 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-4), 7.49 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 172.5 (C=O), 129.3 (C-1), 130.2 (C-2, 6), 128.5 (C-3, 5), 133.8 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为苯甲酸。

化合物 **5**: 无色针晶, 分子式 C₆H₆O₃。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.70 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-6), 6.42 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-5), 2.36 (3H, s, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 154.1 (C-2), 149.2 (C-3), 173.0 (C-4), 113.1 (C-5), 143.2 (C-6), 14.3 (CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为麦芽酚。

化合物 **6**: 黄色油状物。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 11.04 (1H, s, 5-OH), 9.90 (1H, s, 7-OH), 8.93 (1H, s, 3'-OH), 8.91 (1H, s, 4'-OH), 6.69 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.68 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.56 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6'), 5.91 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 4.74 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-2), 3.93 (1H, m, H-3), 2.59 (1H, dd, $J = 5.0, 16.0$ Hz, H-4a), 2.43 (1H, dd, $J = 7.0, 16.0$ Hz, H-4b), 1.32 (3H, s, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 170.2 (C-4), 160.0 (C-7), 159.9 (C-8a), 158.9 (C-5), 145.0 (C-4'), 145.0 (C-3'), 129.7 (C-1'), 117.9 (C-6'), 115.2 (C-5'), 114.1 (C-2'), 100.0 (C-4a), 95.0 (C-8), 94.7 (C-6), 81.4

(C-2), 65.4 (C-3), 26.2 (C-4), 14.1 (CH₃)。以上核磁信号归属均经 HSQC 和 HMBS 谱确证。上述数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为 3-*O*-乙酰基(-)-表儿茶素。

化合物 **7**: 黄色无定形粉末。mp 196~198 °C。盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z : 431.095 4 [M-H]⁻, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₀。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.63 (1H, brs, 5-OH), 7.75 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.41 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.29 (1H, s, H-1''), 3.07~3.97 (4H, m, H-2''~5''), 0.78 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **7** 为阿福豆昔。

化合物 **8**: 浅棕色粉末。¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ : 7.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.96 (1H, dd, $J = 2.5, 8.0$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.03 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.93 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 4.93 (1H, s, H-2), 4.22 (1H, m, H-3), 3.83 (3H, s, OCH₃), 2.87 (1H, dd, $J = 4.5, 16.0$ Hz, H-4 β), 2.77 (1H, dd, $J = 3.5, 16.5$ Hz, H-4 α); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ : 79.6 (C-2), 66.9 (C-3), 29.5 (C-4), 157.6 (C-5), 96.1 (C-6), 157.2 (C-7), 95.8 (C-8), 157.7 (C-9), 99.8 (C-10), 132.2 (C-1'), 111.8 (C-2'), 146.8 (C-3'), 147.9 (C-4'), 115.2 (C-5'), 120.6 (C-6'), 56.3 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **8** 为 3'-甲氧基-表儿茶素。

化合物 **9**: 黄色针晶, mp 267~268 °C。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.48 (1H, s, 5-OH), 10.15 (1H, s, 4'-OH), 8.10 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.78 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.37 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.12 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 3.70~3.10 (6H, m, H-2''~6''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 147.5 (C-2), 176.0 (C-4), 160.4 (C-5), 98.8 (C-6), 162.5 (C-7), 94.2 (C-8), 155.8 (C-9), 121.6 (C-1'), 129.7 (C-2', 6'), 115.5 (C-3', 5'), 159.4 (C-4'), 104.6 (C-1''), 60.9~77.7 (C-2''~6'')。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为山柰酚-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 487 [M+Na]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.71 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-2'), 7.59 (1H, dd, $J = 2.0, 8.5$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, $J =$

2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.25 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1"), 3.23~3.72 (6H, m, H-2"~6"); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 159.0 (C-2), 135.6 (C-3), 179.5 (C-4), 163.0 (C-5), 99.9 (C-6), 166.1 (C-7), 94.7 (C-8), 158.5 (C-9), 105.6 (C-10), 123.2 (C-1'), 116.0 (C-2'), 145.9 (C-3'), 149.8 (C-4'), 117.6 (C-5'), 123.1 (C-6'), 104.3 (C-1"), 75.7 (C-2"), 78.1 (C-3"), 71.2 (C-4"), 78.4 (C-5"), 62.5 (C-6")。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为槲皮素-3-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

4 讨论

现代医学研究已证实诸多疾病的发生和发展与自由基导致的机体细胞氧化损伤密切相关, 因此从天然产物中寻找安全有效的抗氧化剂成为近年来的研究热点之一。本研究以抗 DPPH 自由基能力为指标, 评价广金钱草种子醇提物不同萃取部位的抗氧化能力。抗氧化活性测定结果提示广金钱草种子提取物具有一定的抗氧化活性。由图 1 可知, 各萃取物对 DPPH 自由基的清除率随着质量浓度的增加逐步呈上升趋势, 具有较好的量效关系。以 IC_{50} (达到 DPPH 清除率 50% 时抗氧化剂的质量浓度) 值表示提取物对 DPPH 的清除能力: 氯仿部位 > 石油醚部位 > 水相部位 > 正丁醇部位。采用紫外分光光度法测定萃取物中总黄酮的量: 正丁醇部位 > 氯仿部位 > 石油醚部位 > 水相部位。氯仿、石油醚和水相提取物抗氧化能力与总黄酮的量呈正相关。正丁醇部位总黄酮的量最高, 但其清除 DPPH 自由基的活性最弱。推测与广金钱草种子提取物的不同极性部位中所含主要抗氧化成分的种类、结构及量有关, 此外各提取物对不同类型的自由基也有选择性作用。更深入的分离纯化工作以及多类型自由基模型的综合评价研究还有待进一步开展。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 梅全喜. 现代中药药理与临床应手册 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [4] 刘伟, 南光明, 李紫薇, 等. 响应面法优化新疆若羌大枣总黄酮提取工艺及抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2012, 33(22): 123-126.
- [5] Lee Y L, Yang J H, Mau J L. Antioxidant properties of water extracts from *Monascus* fermented soybeans [J]. *Food Chem*, 2008, 106(3): 1127-1137.
- [6] 张大帅, 陈文豪, 陈光英, 等. 琼岛染木树的化学成分 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(12): 964-967.
- [7] 林大都, 刘嘉炜, 李武国, 等. 蒲桃茎化学成分及其体外细胞毒活性研究 [J]. 中草药, 2014, 45(14): 1993-1997.
- [8] 陈佳宝, 刘佳宝, 崔保松, 等. 南五味子根的化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(2): 178-184.
- [9] 谭国英, 张朝凤, 张勉. 野生直立百部的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 38(6): 499-501.
- [10] 王久粉, 刘丹, 钱士辉, 等. 中国红参化学成分的研究 [J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(6): 55-56.
- [11] Li D L, Li X M, Peng Z Y, *et al.* Flavanol derivatives from *Rhizophora stylosa* and their DPPH radical scavenging activity [J]. *Molecules*, 2007, 12(5): 1163-1169.
- [12] 尚小雅, 李帅, 王素娟, 等. 红绒毛羊蹄甲中的黄酮类成分 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 196-199.
- [13] Okushio K, Suzuki M, Matsumoto N, *et al.* Identification of (-)-epicatechin metabolites and their metabolic fate in the rat [J]. *Drug Metab Dispos*, 1999, 27(2): 309-316.
- [14] 于志斌, 杨广义, 吴晨, 等. 救心草的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(1): 67-69.
- [15] 甘秀海, 赵超, 梁志远, 等. 百尾参止咳活性成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(23): 4099-4102.