

• 化学成分 •

番石榴叶中抗氧化活性成分的研究

吴慧星¹, 李晓帆², 李 荣¹, 李 玲^{1,2}, 王乃利^{1,2*}

(1 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2 深圳清华大学研究院 深圳市创新中药及天然药物研究重点实验室, 广东 深圳 518057)

摘要:目的 研究番石榴 *Psidium guajava* 叶的活性成分, 为开发番石榴叶资源提供依据。方法 以抗氧化活性为指标, 运用多种柱色谱等现代分离手段对番石榴叶 60% 乙醇提取物进行活性追踪分离; 根据理化性质和波谱学分析鉴定了化合物的结构, 并评价了其抗氧化活性。结果 分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为儿茶素(1)、鸢尾酚酮 2-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(2)、山柰酚(3)、槲皮素(4)、槲皮素 3-O-α-L-呋喃阿拉伯糖苷(5)、槲皮素 3-O-β-D-吡喃阿拉伯糖苷(6)、槲皮素 3-O-β-D-吡喃半乳糖苷(7)、槲皮素 3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(8)、槲皮素 3-O-(6'-芥子酸)-β-D-吡喃半乳糖苷(番石榴叶苷 A, 9)、槲皮素 3-O-(6'-阿魏酸)-β-D-吡喃半乳糖苷(10)、顺式对香豆酸 4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(11)、去甲氧基莢果蕨素(12)。结论 对分离得到的 11 个化合物进行抗氧化活性测试, 其中化合物 4、5、6 显示较强活性, 1、3、7、8 显示中等强度活性。化合物 2、10、11、12 为首次从番石榴属植物中分离得到, 化合物 9 为新化合物。

关键词: 番石榴叶; 抗氧化; 槲皮素 3-O-(6'-芥子酸)-β-D-吡喃半乳糖苷

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)10-1593-05

Study on anti-oxidative components from leaves of *Psidium guajava*WU Huixing¹, LI Xiaofan², LI Rong¹, LI Ling^{1,2}, WANG Naoli^{1,2}

(1 College of Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2 Key Laboratory for New Drugs Research of Traditional Chinese Medicine in Shenzhen, Research Institutions of Tsinghua University in Shenzhen, Shenzhen 518057, China)

Abstract: Objective To study the active components from the leaves of *Psidium guajava*. **Methods**

Activity-guided isolation was performed in this study. Compounds were isolated by various chromatographic methods and elucidated from spectroscopic data. DPPH Radical scavenging assay was used to evaluate the anti-oxidative activity of fractions and compounds. **Results** Twelve compounds were obtained and identified as catechin (1), iriflophenone 2-O-β-D-glucopyranoside (2), kaempferol (3), quercetin (4), quercetin 3-O-α-L-arabinofuranoside (5), quercetin 3-O-β-D-arabinopyranoside (6), quercetin 3-O-β-D-galactopyranoside (7), quercetin 3-O-β-D-glycopyranoside (8), quercetin 3-O-(6'-erucoyl)-β-D-galactopyranoside (guavaric A, 9), quercetin 3-O-(6'-feruloyl)-β-D-galactopyranoside (10), *cis*-coumaric acid 4-O-β-D-glucopyranoside (11), and demethoxymatteucinol (12), respectively. **Conclusion** Compounds 4, 5, and 6 show strong, and 1, 3, 7, and 8 show medium antioxidative activity. Compound 9 is a new compound and 2, 10, 11, and 12 are reported for the first isolation from the plants of *Psidium* L.

Key words: *Psidium guajava* L.; anti-oxidation; quercetin 3-O-(6'-erucoyl)-β-D-galactopyranoside

番石榴叶为桃金娘科番石榴属植物番石榴 *Psidium guajava* L. 的干燥叶及带叶嫩茎, 原产南美洲, 我国福建、台湾、广东、广西、四川、云南等省区均有分布或栽培^[1]。番石榴叶具生津止渴、除烦、收

敛止泻、消炎止血、止痒、驱虫等功效^[2]。番石榴叶的主要化学成分有黄酮类化合物、鞣质、挥发油、植物固醇、叶绿素、多糖等^[3]。近来研究表明番石榴叶具有很好的降血糖作用^[4]。而糖尿病的产生在很大

①收稿日期: 2010-05-20

基金项目: 深圳市科技计划项目(JC200903170477A)

作者简介: 吴慧星(1984—), 女, 河北省石家庄市人, 硕士研究生, 主要从事天然药物化学的研究。

Tel: (0755)26957800 Fax: (0755)26711832 E-mail: wuhuixing1222@163.com

* 通讯作者 王乃利 Tel: (0755)26957800 E-mail: wangnli@tsinghua.sz.org.cn

程度上与体内活性氧的代谢失调有关,为此本实验采用 DPPH 自由基清除法作为评价指标^[5],对番石榴叶进行了活性追踪性分离,并对分离得到的 11 个化合物进行了活性评价。

1 仪器与材料

Yanaco 熔点仪(日本 Yanaco 公司), Bruker AV-400 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司), Bruker Esquire 2000 质谱仪(瑞士 Bruker 公司), UV-2401 紫外分光光度计(日本 Shimadzu 公司), JASCO-P-1020 全自动旋光仪(日本分光公司), Spectra max 340pc 酶标仪(分子仪器有限公司)。

核磁测定频率 $^1\text{H-NMR}$ 均为 400 MHz, $^{13}\text{C-NMR}$ 均为 100 MHz。核磁溶剂(Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)使用 CDCl_3 和 $\text{DMSO}-d_6$ 。

薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 和柱色谱用硅胶(青岛海洋化工有限公司), D-101 大孔吸附树脂(天津海光化工公司), 反相 ODS 填料(德国 Merck 公司), LH-20 葡聚糖凝胶(瑞士 Amersham Biosciences 公司), 液相用甲醇为色谱纯, 水为双重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

番石榴叶药材采自广东省从化市, 由深圳市药检所中药室主任药师熊英鉴定为番石榴 *Psidium guajava* L. 的叶, 标本保存于深圳清华大学研究院创新中药及天然药物研究重点实验室。

2 活性追踪性提取分离

干燥番石榴叶 9.5 kg 用 60% 乙醇溶液回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并滤液, 减压浓缩得浸膏(PG) 2.6 kg, 从中取出 700 g, 用水分散后, 使用 D-101 大孔吸附树脂柱色谱, 依次用水, 30%、50%、95% 乙醇洗脱, 各洗脱液减压浓缩, 得 4 个流分(PG 0%~PG 95%), 对以上浸膏与流分进行抗氧化活性测定, 结果 50% 流分显示最强抗氧化活性, 故其后对 50% 流分进一步研究。取 50% 流分 119 g, 使用硅胶柱色谱, 用不同比例的氯仿-甲醇洗脱得 17 个流分(PG 50-1~PG 50-17), 对以上流分进行抗氧化活性测定, 结果 PG 50-7、8、10、13、14 显示较强抗氧化活性, 可推测活性成分集中于此。其后对上述 5 流分进行分离, 使用 Sephadex LH-20、ODS 柱色谱、反复 HPLC 分离, 纯化得到化合物 **1**(14.5 mg)、**2**(4 mg)、**3**(5 mg)、**4**(60 mg)、**5**(150 mg)、**6**(25 mg)、**7**(160 mg)、**8**(5.6 mg)、**9**(10.6 mg)、**10**(8.7 mg)、**11**(4 mg)、**12**(3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **9**(新化合物): 黄色粉末, 盐酸-镁粉反

应呈阳性, 提示可能为黄酮类化合物。mp 124~126 °C。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (lg ϵ) nm: 336(4.35), 244(4.38)。[α]_D²⁵ - 7.8 (c 0.2, MeOH)。ESI-MS (negative) m/z : 669 [M - H]⁻, 推测相对分子质量 670。HR-ESI-MS m/z : 669.1465 [M - H]⁻ (计算值 669.1461), 推测分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$, 不饱和度 18。 $^1\text{H-NMR}$ 显示 δ : 12.60, 10.89, 9.76, 9.20, 8.93 的 5 个 OH 质子信号, 其中 δ : 12.60 (s) 为典型的 5-OH 质子信号。芳香区 δ : 7.53 (1H, br s)、7.66 (1H, br d, J = 8.4 Hz)、6.83 (1H, d, J = 8.4 Hz) 信号提示结构中含有一个 1, 2, 4 取代的苯环; δ : 6.10 (1H, br s)、6.38 (1H, br s) 提示另有一个间位二氢取代苯环; δ : 6.91 (2H, s) 提示第 3 个苯环的存在, 并且两个取代氢有相同化学环境; δ : 7.40 (1H, d, J = 15.8 Hz)、6.32 (1H, d, J = 15.8 Hz) 为一对反式烯氢信号。将化合物 **9** 进行酸水解, 与标准糖经 GC-MS 对照, 检测为 D-半乳糖; 糖的端基氢信号 δ : 5.39 (1H, d, J = 7.6 Hz) 提示糖苷键为 β 型。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 谱共给出 32 个碳信号, δ : 177.4 和 166.2 为两个羰基信号, δ : 101.7, 71.0, 72.9, 68.2, 72.9, 63.0 为糖的碳信号, δ : 106.2, 147.9 为两个加倍碳信号, 再次验证了结构中有对称部分, δ : 145.3 和 114.3 为反式烯碳信号, δ : 56.0 是加倍碳信号, 为两个甲氧基信号。通过 HSQC 确定了直接相连的碳氢关系。通过 COSY 和 HMBC 确定了各个片段的连接关系, 其中 δ : 3.79 的甲氧基与 δ : 147.9 的碳有相关, 提示 2 个甲氧基分别连在 2 个 δ : 147.9 的碳上, δ : 7.40 的烯氢与 δ : 166.2 和 106.2 的碳有相关, 提示反式双键连在羰基和苯环中间, 从而推出了芥子酸片段部分。 δ : 5.39 的端基氢与 δ : 133.4 的碳有相关, 提示糖连在槲皮素母核的 3 位, δ : 4.10 的端基氢与 δ : 166.2 的碳有相关, 提示芥子酸连在糖的 6 位, 由以上信息推测化合物 **9** 为槲皮素-3-O-(6''-芥子酸)- β -D-吡喃半乳糖苷 [quercetin-3-O-(6''-erucoyl)- β -D-galactopyranoside]。经 SciFinder 学术检索, 该化合物为未见文献报道的新化合物。氢信号归属: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.10 (1H, br s, H-6), 6.38 (1H, br s, H-8), 7.53 (1H, br s, H-2'), 6.83 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 7.66 (1H, br d, J = 8.4 Hz, H-6'), 5.39 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 3.40~4.10 (6H, m, H-2' ~ H-6'), 6.91 (2H, s, H-2''', 6'''), 7.40 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-7''), 6.32 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-8''), 3.79 (6H, s, CH₃O-3''', 5''')。碳信号归属见

表 1。化学结构式见图 1。

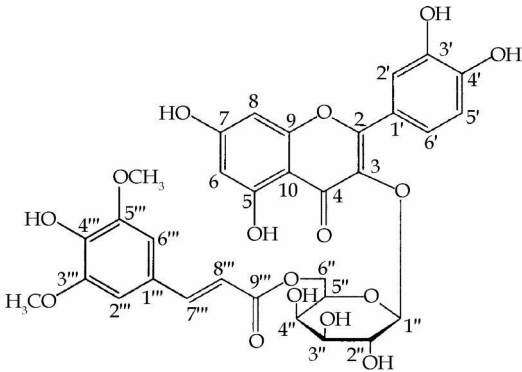


图 1 化合物 9 的结构

Fig 1 Structure of compound 9

表 1 化合物 4~ 10 的 ¹³C-NMR 数据

Table 1 ¹³C-NMR Data of compounds 4~ 10

碳位	4	5	6	7	8	9	10
2	146.7	156.5	156.3	156.2	156.0	156.2	156.1
3	135.6	133.5	133.7	133.5	133.2	133.4	133.4
4	175.8	177.8	177.5	177.4	177.2	177.4	177.4
5	156.1	161.3	161.2	161.2	161.1	161.1	161.1
6	98.1	98.8	98.7	98.6	98.8	98.6	98.6
7	163.9	164.4	164.2	164.1	164.7	164.1	164.1
8	93.3	93.7	93.5	93.4	93.5	93.4	93.4
9	160.6	157.1	156.2	156.3	156.3	156.2	156.2
10	102.9	104.0	103.9	103.9	103.7	103.8	103.7
1'	121.9	121.1	120.9	121.1	121.0	121.0	121.0
2'	115.0	115.7	115.3	115.1	116.1	115.9	115.8
3'	145.0	145.2	145.0	144.8	144.8	144.8	144.8
4'	147.6	148.6	148.6	148.4	148.5	148.4	148.1
5'	115.5	115.6	115.8	115.9	115.1	115.2	115.2
6'	119.9	121.8	122.0	121.9	121.5	121.8	121.8
1''		108.0	101.4	101.8	101.0	101.7	101.6
2''		82.2	71.6	71.2	74.0	71.0	71.0
3''		77.1	70.7	73.2	76.5	72.9	72.8
4''		86.0	66.0	67.9	70.0	68.2	68.2
5''		60.8	64.2	75.8	77.4	72.9	72.9
6''				60.1	60.9	63.0	63.0
1'''						124.3	125.4
2'''						106.2	111.0
3'''						147.9	147.8
4'''						138.3	149.3
5'''						147.9	115.4
6'''						106.2	122.9
7'''						145.3	145.0
8'''						114.3	113.9
9'''						166.2	166.2
- OCH ₃ (3''')						56.0	55.6
- OCH ₃ (5''')						56.0	

化合物 1: 白色针晶(MeOH)。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (lg ϵ) nm: 280 (3.54)。[α]_D²⁵ - 38.5 (c 0.2, MeOH)。ESI-MS (positive) m/z : 291 [M + H]⁺。 ¹H-NMR δ : 4.47 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-2), 3.82 (1H, m, H-3), 2.34 (1H, dd, J = 16.1, 8.1 Hz, H-4), 2.64 (1H, dd, J = 16.1, 5.4 Hz, H-4), 5.69 (1H, d, J =

2.2 Hz, H-6), 5.88 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.58 (1H, dd, J = 2.0, 8.0 Hz, H-2'), 6.71 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-5'), 6.68 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6')。 ¹³C-NMR δ : 81.1 (C-2), 66.4 (C-3), 27.9 (C-4), 156.3 (C-5), 94.0 (C-6), 156.5 (C-7), 95.3 (C-8), 155.4 (C-9), 99.2 (C-10), 130.7 (C-1'), 114.6 (C-2'), 144.9 (C-3', 4'), 118.5 (C-5'), 115.2 (C-6')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[6] 基本一致, 故确定化合物 1 为儿茶素(catechin)。

化合物 2: 黄色粉末。ESI-MS (negative) m/z : 407 [M - H]⁻。 ¹H-NMR δ : 6.07 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-3), 6.00 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-6), 7.53 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.68 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 4.68 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1''), 2.87~3.67 (6H, m, H-2''~6'')。 ¹³C-NMR δ : 109.3 (C-1), 156.6 (C-2), 94.5 (C-3), 159.9 (C-4), 96.8 (C-5), 156.8 (C-6), 130.0 (C-1'), 131.9 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 162.4 (C-4'), 193.2 (C-7'), 101.0 (C-1''), 73.4 (C-2''), 76.5 (C-3''), 69.6 (C-4''), 77.1 (C-5''), 60.8 (C-6'')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[7] 基本一致, 故确定化合物 2 为鸢尾酚酮-2-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(iriflophenone-2-O- β -D-glucopyranoside)。

化合物 3: 黄色粉末, ESI-MS (negative) m/z : 285 [M - H]⁻。 ¹H-NMR δ : 12.47 (1H, s, 5-OH), 6.19 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.44 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.92 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-2', 6'), 8.04 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-3', 5')。 ¹³C-NMR δ : 146.8 (C-2), 135.6 (C-3), 175.8 (C-4), 156.1 (C-5), 98.2 (C-6), 163.8 (C-7), 93.4 (C-8), 160.6 (C-9), 103.0 (C-10), 121.6 (C-1'), 129.4 (C-2', 6'), 115.4 (C-3', 5'), 159.1 (C-4')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[8] 基本一致, 故确定化合物 3 为山柰酚(kaempferol)。

化合物 4: 黄色粉末。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (lg ϵ) nm: 371 (4.08), 255 (4.05)。ESI-MS (negative) m/z : 301 [M - H]⁻。 ¹H-NMR δ : 6.18 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.40 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 7.67 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.53 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz, H-6')。其碳氢谱数据与文献报道数据^[9] 基本一致, 故确定化合物 4 为槲皮素(querletin)。碳信号归属见表 1。

化合物 5: 黄色粉末。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (lg ϵ) nm: 356 (4.45), 256 (4.54)。ESI-MS (negative) m/z : 433

$[M-H]^-$ 。 1H -NMR δ 6.20(1H, d, $J=1.2$ Hz, H-6), 6.41(1H, d, $J=1.2$ Hz, H-8), 7.48(1H, d, $J=2.2$ Hz, H-2'), 6.85(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 7.54(1H, dd, $J=8.4, 2.2$ Hz, H-6'), 5.57(1H, d, $J=1.2$ Hz, H-1''), 3.16~4.16(5H, m, H2'~H5')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[10]相一致, 故确定化合物 **5** 为槲皮素-3-O- α -L-呋喃阿拉伯糖苷(queracetir 3-O- α -L-arabinofuranoside)。碳信号归属见表1。

化合物 **6**: 黄色粉末。UV λ_{max}^{MeOH} (lg ϵ) nm: 358(4.53), 257(4.62)。ESI-MS(negative) m/z : 433 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR δ 6.20(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-6), 6.40(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-8), 7.51(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 6.84(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 7.65(1H, dd, $J=8.4, 2.1$ Hz, H-6'), 5.27(1H, d, $J=5.2$ Hz, H-1''), 3.17~3.75(5H, m, H2'~H5')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[11]相一致, 故确定化合物 **6** 为槲皮素-3-O- β -D-吡喃阿拉伯糖苷(queracetir 3-O- β -D-arabinopyranoside)。碳信号归属见表1。

化合物 **7**: 黄色粉末。UV λ_{max}^{MeOH} (lg ϵ) nm: 360(4.46), 257(4.54)。ESI-MS(negative) m/z : 463 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR δ 6.20(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.40(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 7.53(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-2'), 6.82(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 7.66(1H, dd, $J=8.5, 2.1$ Hz, H-6'), 5.37(1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1''), 3.17~3.66(6H, m, H2'-H6')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[11]相一致, 故确定化合物 **7** 为槲皮素-3-O- β -D-吡喃半乳糖苷(queracetir 3-O- β -D-galactopyranoside)。碳信号归属见表1。

化合物 **8**: 黄色粉末, ESI-MS(negative) m/z : 463 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR δ 6.17(1H, brs, H-6), 6.37(1H, brs, H-8), 7.57(2H, m, H-2', 6'), 6.83(1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5'), 5.45(1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1''), 3.08~3.59(6H, m, H2'~H6')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[12]相一致, 故确定化合物 **8** 为槲皮素-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(queracetir 3-O- β -D-glucopyranoside)。碳信号归属见表1。

化合物 **10**: 黄色粉末。UV λ_{max}^{MeOH} (lg ϵ) nm: 330(4.55), 254(4.52)。[α]_D²⁵ -2.5(c 0.1, MeOH)。ESI-MS(negative) m/z : 639 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR 谱中, 低场区 δ 12.62(1H, s) 为典型的 5-OH 质子

信号。芳香区 δ : 7.52(1H, d, $J=1.9$ Hz), 7.66(1H, dd, $J=1.9, 8.4$ Hz), 6.82(1H, d, $J=8.4$ Hz) 提示结构中含有一个 1, 2, 4 取代的苯环; δ 6.11(1H, br s), 6.37(1H, br s) 提示另一个苯环的两个氢处于间位; δ 7.20(1H, br s), 6.77(1H, d, $J=8.1$ Hz), 6.92(1H, br d, $J=8.1$ Hz) 提示结构中还有一个 1, 2, 4 取代的苯环; δ 7.36(1H, d, $J=15.8$ Hz), 6.24(1H, d, $J=15.8$ Hz) 为一对反式烯氢信号。 δ 5.40(1H, d, $J=7.7$ Hz) 为糖的端基氢信号。化合物 **10** 和化合物 **9** 的唯一区别是芥子酸部分变成了阿魏酸。通过以上信息以及该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[13]相一致, 确定化合物 **10** 为槲皮素-3-O-(6''-阿魏酸)- β -D-吡喃半乳糖苷[queracetir 3-O-(6''-feruloyl)- β -D-galactopyranoside]。化合物 **10** 为首次从番石榴属植物中分离得到。 1H -NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.11(1H, br s, H-6), 6.37(1H, br s, H-8), 7.52(1H, d, $J=1.9$ Hz, H-2'), 6.82(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 7.66(1H, dd, $J=1.9, 8.4$ Hz, H-6'), 5.40(1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1''), 3.40~4.10(6H, m, H2'-H6'), 7.20(1H, br s, H-2''), 6.77(1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5''), 6.92(1H, br d, $J=8.1$ Hz, H-6''), 7.36(1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7''), 6.24(1H, d, $J=15.8$ Hz, H-8''), 3.80(3H, s, CH₂O-3'')。碳信号归属见表1。

化合物 **11**: 白色针晶(CHCl₃)。UV λ_{max}^{MeOH} (lg ϵ) nm: 271(4.67)。[α]_D²⁵ -138.7(c 0.1, MeOH)。ESI-MS(negative) m/z : 349 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR 谱芳香区 δ 7.67(2H, d, $J=8.8$ Hz), 7.00(2H, d, $J=8.8$ Hz) 提示结构中有对称部分, 且氢处于邻位; δ 6.72(1H, d, $J=12.9$ Hz), 5.83(1H, d, $J=12.9$ Hz) 为一对顺式烯氢信号; δ 4.90(1H, d, $J=7.3$ Hz) 为糖端基氢信号。¹³C-NMR 显示 15 个碳信号, 其中 δ 134.1、115.6 为 2 个加倍碳信号, 再次验证结构中有对称部分; δ 100.0 为端基碳信号。HMBC 中显示 δ 4.90 的氢与 δ 157.7 的碳有相关, 确定了糖的连接位点在酚羟基。 1H -NMR δ : 7.00(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 7.67(2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), 6.72(1H, d, $J=12.9$ Hz, H-7), 5.83(1H, d, $J=12.9$ Hz, H-8), 4.90(1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1''), 3.14~3.69(6H, m, H2'-H6')。¹³C-NMR δ 157.7(C-1), 115.6(C-2, 6), 131.4(C-3, 5), 128.7(C-4), 138.6(C-7), 120.3(C-8), 168.2(C-9), 100.1(C-1'), 73.2(C-2'), 77.0(C-3'), 69.7

(C-4'), 76.6 (C-5'), 60.6 (C-6')。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[14]相一致, 鉴定其为顺式对香豆酸- α -D-吡喃葡萄糖苷(*cis-p*-coumaric acid- α -D-glucopyranoside)。化合物**11**为首次从番石榴属植物中分离得到。

化合物**12**: 淡黄色细针状结晶(CHCl₃)。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (lg ϵ): 352 (2.66), 295 (3.53)。[α]_D²⁵ 4.8 (c 0.1, MeOH)。ESFMS (negative) *m/z*: 283 [M-H]⁻。¹H-NMR δ : 7.36~7.48 (5H, m, H-2'~6'), 5.41 (1H, dd, *J*=3.2, 12.8 Hz, H-2), 3.04 (1H, dd, *J*=12.8, 17.1 Hz, H-3 α), 2.85 (1H, dd, *J*=3.2, 17.1 Hz, H-3 β), 2.08 (6H, s, 6-CH₃, 8-CH₃)。¹³C-NMR δ : 78.7 (C-2), 43.5 (C-3), 196.3 (C-4), 159.4 (C-5), 103.0 (C-6), 160.8 (C-7), 102.9 (C-8), 157.7 (C-9), 102.0 (C-10), 140.0 (C-1'), 125.9 (C-2', 6'), 128.8 (C-3', 5'), 128.6 (C-4'), 7.6 (6-CH₃), 6.8 (8-CH₃)。该化合物碳氢谱数据与文献报道数据^[15]相一致, 故确定化合物**12**为去甲氧基莼果素(demethoxymatteucinol)。化合物**12**为首次从番石榴属植物中分离得到。

4 抗氧化活性测试(DPPH法)

各单体化合物和阳性药均用DMSO配成100 mmol/L的原液, 测试前用无水乙醇稀释成所需浓度。DPPH溶液于使用前用无水乙醇配成0.2 mg/mL, 室温避光保存。将不同浓度的供试品溶液40 μ L, 无水乙醇80 μ L, 0.4 mol/L HAc-NaOAc (pH 5.5) 缓冲溶液40 μ L和DPPH溶液40 μ L加入96孔板各孔中, 选择常用抗氧化剂白藜芦醇为阳性对照, 用时以不加DPPH的供试品溶液各浓度作为对照以消除供试品本身颜色对测试结果的干扰, 并设DPPH自由基阴性对照(以40 μ L无水乙醇代替供试品), 每组平行设3个复孔。将96孔板室温、避光放置30 min后放入酶标仪中, 振荡5 s, 测试其在517 nm处的吸光度*A*值, 计算供试品的自由基清除率, 求算IC₅₀值。

$$\text{自由基清除率} = [A_{\text{DPPH, control}} - (A_{\text{sample}} - A_{\text{sample, control}})] / A_{\text{DPPH, control}} \times 100\%$$

其中 $A_{\text{DPPH, control}}$ 为DPPH自由基阴性对照组*A*值的平均值; A_{sample} 为样品组*A*值的平均值; $A_{\text{sample, control}}$ 为样品乙醇对照组*A*值的平均值

5 结果与讨论

综上所述, 本研究从番石榴叶的活性流分中分离得到7种活性化合物。其中, 具有邻二酚羟基的黄酮醇槲皮素(**4**)及其与五碳糖形成的糖苷(**5**, **6**)显示强活性, IC₅₀值分别为6.56、6.08、12.69 μ mol/L; 但槲皮素-六碳糖的糖苷(**7**, **8**)及二氢黄酮儿茶素(**1**)、不含邻二酚羟基的山柰酚(**3**)活性减弱, IC₅₀值分别为42.18、37.46、53.39、71.44 μ mol/L(阳性对照白藜芦醇的IC₅₀值为132.37 μ mol/L, 化合物**2**、**9**、**10**、**11**的IC₅₀值>100 μ mol/L)。推测原因可能与DPPH自由基清除法的基本原理有关, 即化合物分子中的酚羟基脱氢提供电子与DPPH自由基的单电子配对并形成新的苯氧自由基, 能稳定苯氧自由基的结构都会使抗氧化活性增强。

参考文献:

- [1] 梁国秋, 邓东旭, 陈全斌. 番石榴研究文献计量分析[J]. 农业图书情报学刊, 2007, 19(3): 117-120
- [2] 李丹, 程天印, 董振生. 番石榴叶药用研究现状[J]. 畜牧兽医科技信息, 2008, 2: 15-16
- [3] 徐鸿华. 中草药彩图手册(一)[M]. 广州: 广东科技出版社, 2003
- [4] 王波, 刘衡川. 番石榴的降血糖作用研究[J]. 现代预防医学, 2005, 32(10): 1293-1294
- [5] Blois S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical[J]. *Nature*, 1958, 181: 1199-1200
- [6] 汪伟光, 曹永国, 付立卓, 等. 碎米花杜鹃的化学成分及其对小鼠免疫细胞影响的研究[J]. 中草药, 2010, 41(1): 19-23
- [7] Ito H, Nishitani E, Konoshima T, et al. Flavonoid and benzophenone glycosides from *Coleogyne ramosissima* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54: 695-700
- [8] 赵超, 陈华国, 龚小见, 等. 杠板归的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(3): 365-367
- [9] 倪刚, 张庆建, 郑重飞, 等. 华桑茎皮的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(2): 191-195
- [10] 李敏, 高慧媛, 孙博航. 茶叶正丁醇萃取物化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2008, 25(10): 785-789
- [11] 欧阳明安, 周剑宁. 珙桐叶中的黄酮苷成分[J]. 广西植物, 2003, 23(6): 568-570
- [12] 陈龙, 杜力军, 丁怡. 罗布麻花化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(17): 1340-1342
- [13] Kim Y, Jang D S, Park S H, et al. Flavonol glycoside gallate and ferulate esters from *Persicaria lapathifolia* as inhibitors of superoxide production in human monocytes stimulated by unopsonized zymosan [J]. *Planta Med*, 2000, 66(1): 72-74
- [14] Foo L Y, Lu Y, Molan A L, et al. The phenols and prodelphinidins of white clover flowers [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54: 539-548
- [15] 张东, 杨岚, 傅梅红, 等. 莼果素贯众化学成分研究 III [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1703-1705