

黑老虎化学成分及其抗氧化活性研究

延在昊^{1,3}, 成亮², 孔令义^{1*}, 何泉泉³, 刘健³

1. 中国药科大学 天然药物化学教研室, 江苏 南京 21009

2. 上海医药工业研究院 创新药物与制药工艺国家重点实验室, 上海 200040

3. 爱茉莉太平洋上海研发有限公司, 上海 201801

摘要: 目的 研究黑老虎 *Kadsura coccinea* 的化学成分及其体外抗氧化活性。方法 利用硅胶柱色谱等方法分离纯化, 结合理化性质以及光谱数据鉴定化合物结构, DPPH 法检测体外清除自由基能力。结果 从黑老虎 95%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位分离得到 14 个化合物, 分别鉴定为 micrandilactone C (1)、3, 4-二甲氧基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (2)、红景天苷 (3)、南五味子木脂素 N (4)、原儿茶酸 (5)、莽草酸乙酯 (6)、莽草酸 (7)、5-O- β -D-吡喃葡萄糖基龙胆酸 (8)、丁香酸 (9)、邻苯二甲酸二正丁基酯 (10)、苯甲醇-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (11)、4-O- β -D-吡喃葡萄糖基香草酸 (12)、丁香醛 (13) 和莽草酸甲酯 (14)。化合物 5、6 和 14 具有一定的抗氧化作用。结论 化合物 2、3、6、8~14 为首次从该植物中分离得到; 化合物 5、6 和 14 在天然抗氧化剂研发中具有一定的开发前景。

关键词: 黑老虎; 原儿茶酸; 莽草酸甲酯; 莽草酸乙酯; 抗氧化

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)21-2969-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.21.005

Chemical constituents and their anti-oxidative activities of *Kadsura coccinea*

YEON Jae-ho^{1,3}, CHENG Liang², KONG Ling-yi¹, HE Quan-quan³, LIU Jian³

1. Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

2. State key Laboratory of New Drug and Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China

3. Amorepacific Shanghai R & I Center, Shanghai 201801, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents and their anti-oxidative activities of *Kadsura coccinea*. **Methods** The compounds were isolated and purified by column chromatography. The structures were determined by means of physicochemical properties and spectroscopic analyses. The anti-oxidative activity was studied by DPPH methods. **Results** Fourteen compounds were separated and identified as micrandilactone C (1), 3, 4-dimethoxy phenyl- α -D-glucopyranoside (2), salidroside (3), schisanhenol (4), protocathechuic acid (5), ethyl shikimate (6), shikimic acid (7), 5-O- β -D-glucopyranosylgentisic acid (8), syringic acid (9), 1, 2-benzenedicarboxylic acid-dibutyl ester (10), benzyl-O- β -D-glucopyranoside (11), 4-O- β -D-glucopyranosylvanillic acid (12), syringaldehyde (13), and methyl shikimate (14). Compounds 5, 6, and 14 had the anti-oxidative activities. **Conclusion** Compounds 2, 4, 6, and 8~14 are firstly isolated from *K. coccinea*. Compounds 5, 6, and 14 have the certain prospects in the development of natural anti-oxidative agents.

Key words: *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith; protocathechuic acid; methyl shikimate; ethyl shikimate; anti-oxidation

黑老虎为五味子科南五味子属植物冷饭团 *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith 的根和蔓茎, 别名过山龙、钻地风等, 主要分布于我国江西、湖南、福建、广西、四川、云南等地。味辛、微苦, 性温。具有行气止痛、散瘀通络的功效, 主要用于治疗风湿痹痛、跌打损伤、胃病及妇科病等^[1]。在此前的

研究中, 黑老虎中已发现的化学成分主要包括木脂素类、三萜类、单萜类、倍半萜类、甾体类和氨基酸等^[2]。本课题组研究发现黑老虎乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位具有体外抗氧化作用, 为研究其化学成分及相关活性, 对醋酸乙酯萃取部位进行了进一步提取分离, 得到 14 个化合物, 分别鉴定为

收稿日期: 2013-07-05

作者简介: 延在昊 (1968—), 男, 韩国人, 博士研究生, 研究方向为天然产物化学。Tel: (021)59100685 E-mail: jhyeon@cn.amorepacific.com

*通信作者 孔令义 Tel: (025)83271405 E-mail: cpu_lykong@126.com

micrandilactone C (1)、3, 4-二甲氧基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (3, 4-dimethoxy phenyl- α -D-glucopyranoside, 2)、红景天苷 (salidroside, 3)、南五味子木脂素 N (schisanhenol, 4)、原儿茶酸 (protocatechuic acid, 5)、莽草酸乙酯 (ethyl shikimate, 6)、莽草酸 (shikimic acid, 7)、5-O- β -D-吡喃葡萄糖基龙胆酸 (5-O- β -D-glucopyranosylgentisic acid, 8)、丁香酸 (syringic acid, 9)、邻苯二酸二正丁基酯 (1, 2-benzenedicarboxylic acid-dibutyl ester, 10)、苯甲醇-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (benzyl-O- β -D-glucopyranoside, 11)、4-O- β -D-吡喃葡萄糖基香草酸 (4-O- β -D-glucopyranosylvanillic acid, 12)、丁香醛 (syringaldehyde, 13) 和莽草酸甲酯 (methyl shikimate, 14)。其中化合物 2、3、6、8~14 为首次从该植物中分离得到。体外活性测试结果显示, 化合物 5、6 和 14 具有自由基 DPPH 清除作用。

1 仪器与材料

Reichert 熔点测定仪 (美国 Reichert 公司), Avance 600MR 核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司), Inova-400 型核磁共振仪 (Varian 公司), Q-Tofmicro 四级杆飞行质谱仪 (英国 Micromass 公司), 酶标仪 (SpectraMax 190 ELISA reader, Molecular Devices 公司)。硅胶 GF254 薄层预制板 (烟台江友硅胶开发有限公司), 300~400 目柱色谱用硅胶 (上海上邦实业有限公司)。所用试剂及其他化学品均为分析级。

黑老虎饮片购自广西, 由第二军医大学药学院生药教研室郑汉臣教授鉴定为五味子科南五味子属植物冷饭团 *Kadsura coccinea* (Lem.) A. C. Smith 的根。

2 提取与分离

取干燥黑老虎饮片 30 kg, 以 95%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液并减压浓缩, 得到总浸膏 2.6 kg。将浸膏悬浮于适量水中, 依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇反复萃取, 其中醋酸乙酯萃取部位减压浓缩得到 180 g 浸膏。将所得醋酸乙酯部位浸膏进行硅胶柱色谱, 以三氯甲烷-甲醇 (95:5→0:100) 梯度洗脱。对 95:5、90:10 及 80:20 的洗脱部分分别再经反复硅胶柱色谱, 从 95:5 洗脱部分得到化合物 1 (10.4 mg); 从 90:10 洗脱部分得到化合物 2 (5.7 mg)、3 (5 mg)、4 (8.3 mg)、5 (100.4 mg)、6 (130.9 mg)、11 (7.6 mg)、14 (80.5 mg); 从 80:20 部分得到化合物 7 (6.3 mg)、8 (4.2 mg)、9 (25.4 mg)、10 (11.7 mg)、12 (7.5

mg)、13 (9.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, ESI-MS: m/z 557 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ : 4.18 (1H, d, J = 4.2 Hz, H-1), 2.76 (1H, dd, J = 4.2, 18.0 Hz, H-2 α), 2.37 (1H, d, J = 18.0 Hz, H-2 β), 2.29 (1H, overlapped, H-5), 1.27 (1H, m, H-6 α), 1.73 (1H, m, H-6 β), 2.12 (1H, overlapped, H-7 α), 1.58 (1H, overlapped, H-7 β), 1.57 (1H, m, H-8), 1.59 (1H, overlapped, H-11 α), 1.30 (1H, brd, J = 13.2 Hz, H-11 β), 1.40 (1H, overlapped, H-12 α), 2.01 (1H, overlapped, H-12 β), 3.75 (1H, d, J = 3.2 Hz, H-15), 1.90 (1H, overlapped, H-16 α), 1.60 (1H, overlapped, H-16 β), 1.97 (1H, overlapped, H-17), 1.01 (3H, s, H-18), 2.05 (1H, ABd, J = 15.6 Hz, H-19 α), 1.77 (1H, ABd, J = 15.6, H-19 β), 2.01 (1H, overlapped, H-20), 0.99 (3H, d, J = 4.6 Hz, H-21), 3.65 (1H, brd, J = 5.4 Hz, H-22), 5.05 (1H, brs, H-23), 7.10 (1H, brs, H-24), 1.80 (3H, s, H-27), 1.17 (1H, s, H-29), 1.05 (1H, s, H-30); ^{13}C -NMR (150 MHz, C_5D_5N) δ : 82.3 (C-1), 37.0 (C-2), 176.8 (C-3), 85.5 (C-4), 59.8 (C-5), 28.7 (C-6), 24.5 (C-7), 56.7 (C-8), 72.5 (C-9), 100.8 (C-10), 38.4 (C-11), 39.0 (C-12), 45.9 (C-13), 86.8 (C-14), 76.9 (C-15), 36.2 (C-16), 54.3 (C-17), 18.3 (C-18), 47.5 (C-19), 37.9 (C-20), 18.5 (C-21), 73.6 (C-22), 82.7 (C-23), 148.8 (C-24), 130.5 (C-25), 176.5 (C-26), 10.6 (C-27), 29.6 (C-29), 24.0 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[3], 故鉴定化合物 1 为 micrandilactone C。

化合物 2: 白色粉末, ESI-MS: m/z 339 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.83 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-2), 6.46 (1H, dd, J = 2.8, 7.8 Hz, H-5), 6.85 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-6), 3.78 (3H, s, 3-OCH₃), 3.80 (3H, s, 4-OCH₃), 4.80 (1H, d, J = 5.0 Hz, H-1'), 3.30 (1H, m, H-2'), 3.30~3.50 (3H, m, H-3', 4', 5'), 3.88 (1H, dd, J = 12.0, 2.1 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, J = 12.0, 5.8 Hz, H-6'b); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 154.5 (C-1), 104.0 (C-2), 151.0 (C-3), 145.9 (C-4), 113.9 (C-5), 110.2 (C-6), 103.5 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.0 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.5 (C-6'), 57.5 (-OCH₃), 56.5 (-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[4], 故鉴定化合物 2 为 3, 4-二甲氧基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 3: 无色针晶, ESI-MS m/z : 323 $[M+$

$\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.10 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-2, 6), 6.95 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-3, 5), 4.60 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, $\alpha\text{-CH}_2$), 4.83 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.20 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-1', $\beta\text{-CH}_2$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 131.8 (C-1), 130.6 (C-2, 6), 118.8 (C-3, 5), 158.8 (C-4), 77.6 (C- α), 33.8 (C- β), 101.8 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **3** 为红景天苷。

化合物 **4**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 453 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.48 (1H, s, H-1a), 4.35 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-1b), 2.66 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, m, H-8), 4.97 (1H, s, H-9), 6.35 (1H, s, H-11), 1.08 (3H, s, H-17), 1.11 (3H, s, H-18), 3.51 (3H, s, 1-OCH₃), 3.87 (3H, s, 2-OCH₃), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 3.90 (3H, s, 12-OCH₃), 3.88 (3H, s, 13-OCH₃), 3.52 (3H, s, 14-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 154.7 (C-1), 140.8 (C-2), 152.3 (C-3), 106.9 (C-4), 141.3 (C-5), 90.4 (C-6), 37.8 (C-7), 52.3 (C-8), 90.3 (C-9), 137.2 (C-10), 103.7 (C-11), 151.3 (C-12), 140.6 (C-13), 153.1 (C-14), 119.7 (C-15), 118.8 (C-16), 14.2 (C-17), 13.6 (C-18), 61.1 (1-OCH₃), 56.0 (2-OCH₃), 61.1 (3-OCH₃), 61.0 (12-OCH₃), 55.8 (13-OCH₃), 61.1 (14-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **4** 为南五味子木脂素 N。

化合物 **5**: 白色无定型粉末, ESI-MS m/z : 152 $[\text{M} - \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.35 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.30 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5)。与原儿茶酸对照品共薄层, 3 种溶剂系统展开 R_f 值及显色行为均一致, 氢谱数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **5** 为原儿茶酸。

化合物 **6**: 无色针状结晶 (丙酮), ESI-MS m/z : 203 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.75 (1H, s, H-2), 3.72 (1H, m, H-3), 4.03 (1H, dd, $J = 12.5, 4.8$ Hz, H-4), 4.42 (1H, dd, $J = 7.2, 4.5$ Hz, H-5), 2.68 (1H, dd, $J = 17.5, 4.0$ Hz, H-6), 2.24 (1H, dd, $J = 17.5, 4.0$ Hz, H-6), 4.20 (2H, q, $J = 9.6$ Hz, H-8), 1.26 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 130.0 (C-1), 137.5 (C-2), 71.0 (C-3), 66.8 (C-4), 65.8 (C-5), 30.0 (C-6), 166.1 (C-7), 60.0 (C-8), 13.5 (C-9)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物

6 为莽草酸乙酯。

化合物 **7**: 无色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 175 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.60 (1H, s, H-2), 5.15 (1H, m, H-3), 4.80 (1H, dd, $J = 12.5, 5.0$ Hz, H-4), 4.44 (1H, dd, $J = 7.2, 4.5$ Hz, H-5), 3.48 (1H, dd, $J = 17.0, 3.6$ Hz, H-6), 3.00 (1H, dd, $J = 17.0, 3.6$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 130.0 (C-1), 139.7 (C-2), 67.5 (C-3), 73.3 (C-4), 68.5 (C-5), 32.3 (C-6), 170.1 (C-7)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **7** 为莽草酸。

化合物 **8**: 无色粉末, ESI-MS m/z : 317 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.59 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3), 7.10 (1H, dd, $J = 9.2, 3.0$ Hz, H-4), 7.45 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-6), 4.90 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.33 (1H, m, H-2'), 3.35~3.48 (3H, m, H-3', 4', 5'), 3.86 (1H, dd, $J = 11.0, 2.4$ Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, $J = 11.0, 5.6$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 122.5 (C-1), 158.8 (C-2), 116.9 (C-3), 123.9 (C-4), 150.5 (C-5), 120.2 (C-6), 172.5 (C-7), 104.1 (C-1'), 75.0 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.1 (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.1 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **8** 为 5-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基龙胆酸。

化合物 **9**: 无色针晶 (丙酮), mp 211~212 °C。三氯化铁反应呈阳性。ESI-MS m/z : 221 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.62 (1H, s, -COOH), 9.10 (1H, s, -OH), 7.21 (2H, s, H-2, 6), 3.81 (6H, s, 2 $\times$ -OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **9** 为丁香酸。

化合物 **10**: 无色油状物。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.75 (2H, dd, $J = 5.8, 3.0$ Hz, H-3, 6), 7.60 (2H, dd, $J = 5.8, 3.0$ Hz, H-4, 5), 4.32 (4H, t, $J = 6.5$ Hz, H-8, 8'), 1.70 (4H, m, H-9, 9'), 1.48 (4H, m, H-10, 10'), 0.96 (6H, t, $J = 7.5$ Hz, 11, 11'-CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 169.7 (C-7, 7'), 133.8 (C-1, 2), 132.6 (C-4, 5), 130.1 (C-3, 6), 66.9 (C-8, 8'), 31.6 (C-9, 9'), 20.3 (C-10, 10'), 14.1 (C-11, 11')。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **10** 为邻苯二甲酸二正丁基酯。

化合物 **11**: 无色针晶 (甲醇), mp 123~125 °C。ESI-MS m/z : 293 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.32~7.50 (5H, m, Ph-H), 4.91 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-7a), 4.63 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-7b), 4.34 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 3.00~3.70 (6H, m,

H-2'~6'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 139.3 (C-1), 129.2 (C-2, 6), 129.1 (C-3, 5), 128.4 (C-4), 71.7 (C-7), 103.3 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.8 (C-5'), 62.9 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **11** 为苯甲醇-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **12**: 白色无定形粉末。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.62 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 7.21 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.65 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 5.01 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1'), 3.55 (1H, dd, J = 9.2, 7.5 Hz, H-2'), 3.48 (1H, dd, J = 9.2, 8.0 Hz, H-3'), 3.40 (1H, dd, J = 10.0, 8.0 Hz, H-4'), 3.46 (1H, ddd, J = 10.0, 5.5, 2.0 Hz, H-5'), 3.71 (1H, dd, J = 12.0, 5.5 Hz, H-6'a), 3.86 (1H, dd, J = 12.0, 2.0 Hz, H-6'b); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 126.6 (C-1), 115.4 (C-2), 150.8 (C-3), 152.6 (C-4), 117.6 (C-5), 125.8 (C-6), 169.4 (C-17), 57.6 (C-OCH₃), 102.5 (C-1'), 75.2 (C-2'), 78.4 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.9 (C-5'), 63.0 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **12** 为 4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基香草酸。

化合物 **13**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 183 [$\text{M} + \text{H}$]⁺。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3Cl_3) δ : 3.90 (6H, s, 2 $\times$ -OCH₃), 7.20 (2H, brs, H-2, 6), 9.72 (1H, s,

-CHO); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 56.6 (-OCH₃), 56.8 (-OCH₃), 129.1 (C-1), 108.2 (C-2, 6), 149.9 (C-3, 5), 143.7 (C-4), 192.6 (-CHO)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **13** 为丁香醛。

化合物 **14**: 白色针状结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 189 [$\text{M} + \text{H}$]⁺。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.78 (1H, m, H-2), 4.36 (1H, m, H-3), 3.96 (1H, m, H-4), 3.36 (1H, m, H-5), 2.20~2.67 (2H, m, H-6), 3.73 (3H, s, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 130.0 (C-1), 139.0 (C-2), 68.2 (C-3), 72.5 (C-4), 67.8 (C-5), 31.5 (C-6), 168.7 (C-7), 52.3 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **14** 为莽草酸甲酯。

4 DPPH 法测试体外抗氧化活性

本课题组前期研究发现黑老虎乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位有体外抗氧化作用。化学研究显示原儿茶酸 (**5**)、莽草酸乙酯 (**6**) 和莽草酸甲酯 (**14**) 在醋酸乙酯部位的量较高, 有可能代表其主要的活性成分。因此, 根据文献报道的实验方法^[15], 配制不同质量浓度的以上 3 种化合物的 DMSO 溶液, 阳性对照为维生素 C。将待测样品加入 200 $\mu\text{mol/L}$ DPPH 的乙醇溶液, 在室温且避光的环境下反应 30 min, 517 nm 波长处检测最大吸收。结果见表 1, 原儿茶酸、莽草酸甲酯和莽草酸乙酯均具有清除自由基 DPPH 作用, 且全部具有浓度依赖性。建立质量浓度

表 1 化合物 5、6 和 14 的自由基清除作用

Table 1 Free radical scavenging activities of compounds 5, 6, and 14

组别	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	平均吸光度	自由基清除率 / %	$\text{IC}_{50} / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
空白组	—	0.510	100.0 $\pm$ 0.71	
维生素 C	2.5	0.297	58.2 $\pm$ 4.71	4.15
	5	0.162	31.8 $\pm$ 1.67	
	10	0.174	34.1 $\pm$ 1.71	
	0.625	0.439	86.1 $\pm$ 2.79	
原儿茶酸 (5)	1.25	0.383	75.1 $\pm$ 2.08	3.90
	2.5	0.278	54.6 $\pm$ 3.38	
	5	0.229	44.9 $\pm$ 1.89	
	10	0.165	32.3 $\pm$ 1.08	
	125	0.341	66.9 $\pm$ 1.56	
	250	0.307	60.1 $\pm$ 2.04	
莽草酸乙酯 (6)	500	0.256	50.1 $\pm$ 0.69	528.90
	1 000	0.209	27.3 $\pm$ 0.69	
	125	0.421	82.5 $\pm$ 1.78	
	250	0.364	71.3 $\pm$ 1.88	
莽草酸甲酯 (14)	500	0.297	58.3 $\pm$ 2.23	528.85
	1 000	0.224	43.9 $\pm$ 3.30	

与自由基清除率的回归方程, 利用 Sigma-Aldrich 软件分别算出原儿茶酸的 IC_{50} 为 3.90 mg/L, 莽草酸甲酯的 IC_{50} 为 528.85 mg/L, 莽草酸乙酯的 IC_{50} 为 528.90 mg/L。原儿茶酸抗氧化活性强于维生素 C。

5 讨论

近年来, 伴随一系列食品安全事件的发生, 人们对人工合成氧化剂的不安感与日俱增。研究开发高效、无毒、安全的天然抗氧化剂成为一个必然趋势。作为民间有悠久药用历史的黑老虎, 近年来针对其化学成分的研究逐渐增多。本课题组从体外抗氧化方面考察其活性, 发现黑老虎的乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位具有较好的活性, 提示黑老虎在天然抗氧化剂方面有一定的开发前景。

参考文献

- [1] 胡熙明, 张文康, 朱庆生, 等. 中华本草 (第二册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 舒永志, 成亮, 杨培明, 等. 黑老虎的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2011, 42(4): 805-813.
- [3] Li R T, Han Q B, Zheng Y T, *et al.* Structure and anti-HIV activity of micrandilactones B and C, new nortriterpenoids possessing a unique skeleton from *Schisandra micrantha* [J]. *Chem Commun*, 2005, 23: 2936-2938.
- [4] 宣伟东, 陈海生, 卞俊. 胆木茎中一个新的吲哚生物碱苷 [J]. 药学学报, 2006, 41(11): 1064-1067.
- [5] Sun P Y, Ye W, Zhao J F, *et al.* Studies on the constituents of *Epimedium koreanum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43(4): 703-704.
- [6] 舒永志, 成亮, 曹潜喆, 等. 黑老虎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 428-431.
- [7] 谢春锋, 李子静, 曲建博, 等. 毛地钱和多形带叶苔化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(22): 1706-1708.
- [8] 杜芝芝, 沈月毛, 李炳钧, 等. 滑桃树果皮的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(2): 9-10.
- [9] Cui C B, Tezuka Y, Yamashita H, *et al.* Constituents of a fern, *davallia mariesii* moore. V. isolation and structures of davallin, a new tetrameric proanthocyanidin, and two new phenolic glycosides [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(9): 1491-1497.
- [10] 李微, 陈发奎, 尹相武, 等. 大青叶的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(1): 15-16.
- [11] 冯育林, 吴蓓, 何明珍, 等. 毛重楼的化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1366-1369.
- [12] 倪付勇, 陈重, 许琼明, 等. 高山红景天化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 798-802.
- [13] Tripathi A K, Sama J K, Taneja S C. An expeditious synthesis of syringaldehyde from *para-cresol* [J]. *India J Chem*, 2010, 49B: 379-381.
- [14] 魏健, 杨小生, 朱海燕, 等. 短尾越橘化学成分研究 [J]. 广西植物, 2008, 28(4): 558-560.
- [15] Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 1995, 28(1): 25-30.