

杜仲雄花中黄酮类化学成分及其抗氧化活性研究

丁艳霞^{1,3}, 郭洋静¹, 任莹璐¹, 窦德强³, 李 钦^{1,2*}

1. 河南省高校杜仲工程研究中心, 河南 开封 475001

2. 河南大学 中药研究所, 河南 开封 475001

3. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600

摘要: 目的 研究杜仲 *Eucommia ulmoides* 雄花的黄酮类化学成分, 并进行抗氧化活性筛选。方法 运用硅胶、Sephadex LH-20 和 ODS 等各种色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和谱学数据鉴定化合物结构, 并运用 DPPH 自由基和 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞凋亡实验测定其抗氧化活性。结果 从杜仲雄花 95%乙醇提取物中共分离得到 10 个黄酮类化合物, 分别鉴定为柚皮素 (1)、槲皮素 (2)、槲皮素-3-O- α -L-阿拉伯糖基 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖苷 (3)、异槲皮苷 (4)、江户樱花苷 (5)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖基 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖苷 (6)、山柰酚-3-O- β -D-(6"-O-乙酰基)- β -D-葡萄糖苷 (7)、芦丁 (8)、异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷 (9)、紫云英苷 (10)。结论 化合物 1、5、6、9 为首次从杜仲雄花中分离得到; 活性测试结果表明化合物 2~4、6、8 具有较强的抗氧化活性, 能明显抑制 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞凋亡。

关键词: 杜仲雄花; 黄酮类; 抗氧化活性; 柚皮素; 槲皮素; 江户樱花苷; 紫云英苷

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2014)03-0323-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.03.005

Isolation of flavonoids from male flowers of *Eucommia ulmoides* and their anti-oxidant activities

DING Yan-xia^{1,3}, GUO Yang-jing¹, REN Ying-lu¹, DOU De-qiang³, LI Qin^{1,2}

1. Henan Province University *Eucommia ulmoides* Cultivation and Utilization Engineering Research Center, Kaifeng 475001, China

2. Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475001, China

3. School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

Abstract: Objective To isolate the chemical constituents from the male flowers of *Eucommia ulmoides* and to determine their antioxidative activities. **Methods** Ten flavonoids were isolated and purified by silica gel, Sephadex LH20, and ODS column chromatographies. Their structures were identified by spectroscopic analyses. The anti-oxidant activities were evaluated by DPPH radical scavenging assay and apoptosis of PC12 cells induced by H₂O₂. **Results** Ten compounds were isolated from the male flowers of *E. ulmoides* and identified as naringenin (1), quercetin (2), quercetin-3-O- α -L-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside (3), isoquercitrin (4), prunin (5), quercetin-3-O- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside (6), kaempferol-3-O-(6"-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside (7), rutin (8), isorhamnetin-3-O- β -D-glucopyranoside (9), and astragalin (10). **Conclusion** Compounds 1, 5, 6, and 9 are isolated from the male flowers of *E. ulmoides* for the first time. Compounds 2—4, 6, and 8 are found to have the potent anti-oxidant activity on DPPH scavenging and inhibit the apoptosis on the PC12 cells.

Key words: male flowers of *Eucommia ulmoides*; flavonoids; anti-oxidant activity; naringenin; quercetin; prunin; astragalin

杜仲又名思仙(《本经》), 为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliver 的干燥树皮, 一属一种, 只在中国的四川、安徽、陕西、湖北、河南、贵州、云南、江西、甘肃、湖南、广西等地有种植^[1]。其具补肝肾、强筋骨、降血压、安胎等诸多功效^[2]。杜

仲是雌雄异株的树, 雄花就是杜仲雄树开的花, 研究发现杜仲雄花含 60 多种有效植物成分, 如环烯醚萜类、苯丙素类、黄酮类等活性物质^[3-5]。尤其是黄酮类成分的量远高于杜仲皮和叶, 达到 4.01%^[6]。杜仲雄花基本具备植物杜仲所有的保健功效。现代

收稿日期: 2013-11-17

基金项目: 国家公益性行业专项基金 (201004029)

作者简介: 丁艳霞, 讲师, 研究方向为天然产物提取分离。Tel: 13938605302 E-mail: dingyanxia@henu.edu.cn

*通信作者 李 钦 Tel: 13937859989 E-mail: liqin6006@163.com

研究表明,杜仲中黄酮类成分具有调脂减肥、抗自由基、抗氧化、抑菌、抗病毒等作用,因此杜仲中黄酮类化合物的量是判断杜仲生药及其相关产品质量的重要指标,是杜仲的主要活性成分之一^[7-8]。目前对杜仲黄酮类化合物的研究还仅限于粗提物,具体活性的物质基础尚未确定。因此本实验对杜仲雄花中化学成分进行研究,从其95%乙醇提取物中分离得到10个黄酮类化合物,分别鉴定为柚皮素(naringenin, 1)、槲皮素(quercetin, 2)、槲皮素-3-*O*- α -*L*-阿拉伯糖基(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-葡萄糖苷[quercetin-3-*O*- α -*L*-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-glucopyranoside, 3]、异槲皮苷(isoquercitrin, 4)、江戸樱花苷(prunin, 5)、槲皮素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-葡萄糖苷[quercetin-3-*O*- β -*D*-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-glucopyranoside, 6]、山柰酚-3-*O*- β -*D*-(6''-*O*-乙酰基)- β -*D*-葡萄糖苷[kaempferol-3-*O*- β -*D*-(6''-*O*-acetyl)- β -*D*-glucopyranoside, 7]、芦丁(rutin, 8)、异鼠李素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(isorhamnetin-3-*O*- β -*D*-glucopyranoside, 9)、紫云英苷(astragalin, 10)。化合物1、5、6、9为首次从杜仲中分离得到;活性测试结果表明化合物2~4、6、8具有较强的抗氧化活性,能明显抑制H₂O₂诱导PC12细胞凋亡。

1 仪器与材料

FA1004N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司);X-4 数字显示显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司);Bruker AM-300 超导核磁共振仪;VG Auto Spec-3000 型质谱仪,UV-2100 紫外分析仪。柱色谱硅胶G(青岛海洋化工有限公司,200~300目);ODS(YMC公司,50 μ m),Sephadex LH-20(瑞典 Pharmacia 公司),二苯代苦味肼基(DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)购自 Sigma 公司,叔丁基对苯二酚(TBHQ, 郑州颖辉食品化工有限公司,质量分数>98%),PC12 细胞由中国科学院上海细胞生物研究所提供;其余试剂均为国产分析纯。

杜仲雄花2012年3月采样于河南汝州,由河南大学药学院李钦教授鉴定为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliver 的雄花,标本(HNCEU-03)现保存于河南大学杜仲工程研究中心。

2 实验方法

2.1 提取与分离

杜仲雄花(7 kg)干燥后粉碎,用95%乙醇加热回流提取2次,每次2 h,减压回收溶剂,得到乙

醇总浸膏。该浸膏用1.5倍的水分散后,分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取,回收溶剂,得到石油醚部位(76 g)、醋酸乙酯部位(65 g)、正丁醇部位(260 g)。醋酸乙酯部位进行硅胶柱色谱,石油醚-丙酮梯度洗脱(98:2 $\rightarrow$ 9:1),以TLC检测合并,各组分再经过反复硅胶柱、Sephadex LH-20、ODS反相柱色谱和重结晶,得到化合物1(108 mg)、2(50 mg)。正丁醇部位经硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇梯度洗脱(25:1 $\rightarrow$ 4:1),以TLC检测合并,各组分再经过反复硅胶柱色谱和反相柱色谱,得到化合物3(128 mg)、4(120 mg)、5(20 mg)、6(14 mg)、7(130 mg)、8(28 mg)、9(15 mg)、10(15 mg)。

2.2 抗氧化活性评价

采用DPPH自由基对化合物1~10的体外抗氧化活性进行评价,方法参照Vattemda等^[9]的报道并做了相应改动。在5 mL离心管中加入2 mL新鲜配置的0.05 mmol/L DPPH乙醇溶液,加入以无水乙醇配制的不同浓度待测溶液各300 μ L,摇匀,于室温下避光静置30 min,以无水乙醇作为参比测定其在517 nm下的吸光度(A_s)值,以300 μ L无水乙醇代替待测溶液作为空白对照,测定其吸光度(A_0)值,以样品溶液与2 mL无水乙醇混合作为样品对照,测定其吸光度(A_x)值,以消除样品本身的颜色,并以TBHQ作为阳性对照。

$$\text{DPPH 清除率} = 1 - (A_s - A_x) / A_0$$

2.3 MTT 法检测细胞活性

各组细胞接种于96孔培养板,于培养结束前4 h,加入5 g/LMTT液10 μ L,2 h后待形成蓝紫色的结晶沉淀后加入150 μ L DMSO使沉淀溶解,用酶联免疫检测仪于570 nm波长处测定其吸光度(A)值,计算细胞存活率。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物1:无色针晶(甲醇);ESI-MS m/z : 272.2 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR(400 MHz, CD₃OD) δ : 5.81 (2H, d, J = 2.4 Hz, H-6, 8), 7.23 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.74 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 5.23 (1H, dd, J = 13.1, 2.7 Hz, H-2), 3.28 (1H, dd, J = 17.3, 3.0 Hz, H-3 α), 3.01 (1H, dd, J = 17.3, 3.0 Hz, H-3 β);¹³C-NMR(125 MHz, CD₃OD) δ : 80.5 (C-2), 44.1 (C-3), 197.8 (C-4), 164.9 (C-5), 97.2 (C-6), 168.6 (C-7), 6.3 (C-8), 165.5 (C-9), 103.43 (C-10), 131.2

(C-1'), 129.2 (C-2', 6'), 116.4 (C-3', 5'), 159.1 (C-4')。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 1 为柚皮素。

化合物 2: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 302.2 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 13.38 (1H, s, 5-OH), 6.75 (1H, s, 6-H), 6.79 (1H, s, H-8), 8.15 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 7.55 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6'), 8.66 (1H, s, H-2'); ¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) δ : 158.3 (C-2), 138.8 (C-3), 178.2 (C-4), 163.3 (C-5), 100.1 (C-6), 166.4 (C-7), 95.1 (C-8), 158.3 (C-9), 105.3 (C-10), 121.9 (C-1'), 117.5 (C-2'), 147.9 (C-3'), 148.6 (C-4'), 117.5 (C-5'), 121.9 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[11-12], 故鉴定化合物 2 为槲皮素。

化合物 3: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 596.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.1 (1H, s, H-6), 6.32 (1H, s, H-8), 7.58 (1H, s, H-2'), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 7.60 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 5.45 (1H, d, J = 7.6 Hz, Glc-H-1), 4.72 (1H, d, J = 6.8 Hz, Ara-H-1'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 158.4 (C-2), 135.2 (C-3), 179.6 (C-4), 163.1 (C-5), 100.8 (C-6), 165.8 (C-7), 94.6 (C-8), 158.3 (C-9), 105.7 (C-10), 123.2 (C-1'), 117.3 (C-2'), 146 (C-3'), 149.7 (C-4'), 116.1 (C-5'), 123.4 (C-6'), 100.8 (Glc-C-1), 82.2 (Glc-C-2), 78.1 (Glc-C-3), 70.92 (Glc-C-4), 76.9 (Glc-C-5), 62.3 (Glc-C-6), 105.8 (Ara-C-1), 74.8 (Ara-C-2), 78.2 (Ara-C-3), 71.0 (Ara-C-4), 66.6 (Ara-C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 3 为槲皮素-3-*O*- α -L-阿拉伯糖基 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖苷。

化合物 4: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 464 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.19 (1H, s, H-6), 6.38 (1H, s, H-8), 7.69 (1H, s, H-2'), 6.85 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.56 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-6'), 5.24 (1H, d, J = 7.6 Hz, Glc-H-1), 3.69 (1H, d, J = 11.8 Hz, Glc-H-6 α), 3.55 (1H, d, J = 11.8 Hz, Glc-H-6 β); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 159.5 (C-2), 136 (C-3), 179.9 (C-4), 163.5 (C-5), 100.3 (C-6), 166.5 (C-7), 95.1 (C-8), 158.9 (C-9), 106.1 (C-10), 123.6 (C-1'), 117.9 (C-2'), 146.3 (C-3'), 150.3 (C-4'), 116.4 (C-5'), 123.5 (C-6'), 104.6 (Glc-C-1), 76.1 (Glc-C-2), 78.5 (Glc-C-3), 71.6 (Glc-C-4), 78.7 (Glc-C-5), 62.9 (Glc-C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 4 为异槲皮素。

化合物 5: 淡黄色针晶 (甲醇); ESI-MS m/z : 435 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.30 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.80 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.19 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-6), 6.17 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-8), 5.33 (1H, dd, J = 10.5, 2.0 Hz, H-2), 3.15 (1H, dd, J = 17.6, 6.0 Hz, H-3 α), 2.72 (1H, dd, J = 17.6, 6.0 Hz, H-3 β); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 80.9 (C-2), 44.3 (C-3), 198.9 (C-4), 165.2 (C-5), 98.2 (C-6), 167.3 (C-7), 97.1 (C-8), 164.9 (C-9), 105.3 (C-10), 131.1 (C-1'), 129.4 (C-2', 6'), 116.5 (C-3', 5'), 159.3 (C-4'), 101.4 (Glc-C-1), 74.8 (Glc-C-2), 77.9 (Glc-C-3), 71.3 (Glc-C-4), 78.4 (Glc-C-5), 62.5 (Glc-C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 5 为江户樱花苷。

化合物 6: 黄色粉末 (甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 12.42 (1H, brs, H-5), 7.51 (1H, dd, J = 2.2, 8.3 Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.65 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.35 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.14 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.32 (1H, d, J = 7.6 Hz, Glc-H-1), 4.75 (1H, d, J = 7.1 Hz, Glc-H-1'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 159.4 (C-2), 135.7 (C-3), 180.3 (C-4), 163.7 (C-5), 100.4 (C-6), 166.5 (C-7), 95.2 (C-8), 159.0 (C-9), 106.3 (C-10), 123.6 (C-1'), 118.3 (C-2'), 146.5 (C-3'), 150.4 (C-4'), 116.7 (C-5'), 123.6 (C-6'), 101.7 (Glc-C-1), 83.5 (Glc-C-2), 78.5 (Glc-C-3), 71.6 (Glc-C-4), 78.8 (Glc-C-5), 62.9 (Glc-C-6), 105.6 (Glc-C-1'), 76.1 (Glc-C-2'), 78.5 (Glc-C-3'), 71.5 (Glc-C-4'), 78.6 (Glc-C-5'), 62.9 (Glc-C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 6 为槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖基 (1 $\rightarrow$ 2)- β -D-葡萄糖苷。

化合物 7: 淡黄色粉末 (甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.98 (2H, d, J = 7.0 Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, J = 7.0 Hz, H-3', 5'), 6.15 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-6), 6.34 (1H, J = 1.2 Hz, H-8), 5.13 (1H, d, J = 7.6 Hz, Glc-H-1), 4.15 (1H, d, J = 11.6 Hz, Glc-H-6 α), 4.03 (1H, d, J = 11.6 Hz, Glc-H-6 β), 1.80 (3H, s, -COCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 159.8 (C-2), 135.8 (C-3), 179.8 (C-4), 163.4 (C-5), 100.3 (C-6), 166.5 (C-7), 95.2 (C-8), 158.9 (C-9), 106 (C-10), 123.1 (C-1'), 132.7 (C-2'), 116.4 (C-3'), 162 (C-4'), 116.4 (C-5'), 132.7 (C-6'), 104.7 (Glc-C-1), 75.8 (Glc-C-2), 76 (Glc-C-3), 71.7 (Glc-C-4), 78.2 (Glc-C-5), 64.6 (Glc-C-6), 173.0, 20.8 (COCH₃)。以上

数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **7** 为山柰酚-3-*O*- β -*D*-(6''-*O*-乙酰基)- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **8**: 淡黄色针状结晶 (甲醇); mp 214~216 °C。与芦丁对照品共薄层, 在 3 种不同的展开系统中 R_f 值及显色行为一致, 与芦丁对照品混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **8** 为芦丁。

化合物 **9**: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS *m/z*: 501.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.31 (1H, brs, 5-OH), 7.88 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-2'), 7.52 (1H, dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz, H-6'), 6.85 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.31 (1H, s, H-8), 6.13 (1H, s, H-6), 5.37 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, Glc-H-1), 3.84 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177.8 (C-4), 164.9 (C-7), 161.7 (C-5), 156.7 (C-2), 156.7 (C-9), 149.9 (C-3'), 147.4 (C-4'), 133.4 (C-3), 122.5 (C-6'), 121.5 (C-1'), 115.7 (C-5'), 113.9 (C-2'), 104.4 (C-10), 101.3 (Glc-C-1), 99.2 (C-6), 94.2 (C-8), 78.0 (Glc-C-5), 76.9 (Glc-C-3), 74.8 (Glc-C-2), 70.4 (Glc-C-4), 61.3 (Glc-C-6), 56.1 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **9** 为异鼠李素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色粉末 (甲醇); ESI-MS *m/z*: 471.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.33 (1H, s, 5-OH), 8.00 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3', 5'), 6.31 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-8), 6.13 (1H, d, *J* = 11.5 Hz, H-6), 5.20 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, Glc-H-1); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177.9 (C-4), 164.9 (C-7), 161.7 (C-5), 156.8 (C-2), 156.8 (C-9), 115.6 (C-3'), 160.4 (C-4'), 133.6 (C-3), 131.4 (C-6'), 121.4 (C-1'), 115.6 (C-5'), 131.4 (C-2'), 104.4 (C-10), 101.3 (Glc-C-1), 99.3 (C-6), 94.2 (C-8), 77.9 (Glc-C-5), 76.9 (Glc-C-3), 74.7 (Glc-C-2), 70.3 (Glc-C-4), 61.1 (Glc-C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **10** 为紫云英苷。

3.2 化合物对 DPPH 自由基的清除

由表 1 可知, 化合物 **2**、**3**、**4** 抗氧化活性较强, 超过人工抗氧化剂 TBHQ; **6**、**7**、**8**、**9**、**10** 的活性比 TBHQ 略低, 这可能是由于黄酮 B 环上的羟基数目所致。通常 B 环上羟基越多, 黄酮的抗氧化活性越强, 所以山柰酚-3-*O*- β -*D*-(6''-*O*-乙酰基)- β -*D*-葡萄糖苷、异鼠李素-3-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和紫云英苷活性比槲皮素及其苷类低。双键对活性影响较大, 一旦 C-2, 3 双键被氢化后, 缩短了共轭体系, 改变了分子的平面结构, 降低了羟基的作用, 不利于黄酮类

物质的抗氧化活性^[18], 因此二氢黄酮类化合物柚皮素和江户樱花苷活性极低。

3.3 化合物对 PC12 细胞活性的影响

模型组 PC12 细胞活性与对照组比较明显下降, 说明所选模型有意义。化合物 **2**、**3**、**4**、**6**、**8** 在浓度为 500 μ mol/L 对 H₂O₂ 造成的 PC12 细胞损伤有明显的保护作用 (*P* < 0.01), 结果见表 2。由结果

表 1 化合物 1~10 对 DPPH 自由基清除的 IC₅₀

Table 1 IC₅₀ of compounds 1—10 on scavenging DPPH free radicals

化合物	IC ₅₀ / (μ mol·L ⁻¹)	化合物	IC ₅₀ / (μ mol·L ⁻¹)
1	—	6	69.20
2	1.34	7	73.70
3	1.90	8	65.20
4	30.90	9	70.15
5	—	10	72.36
TBHQ	54.00		

表 2 化合物 1~10 对 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 3)

Table 2 Effects of compounds 1—10 on survival rate of PC12 cells induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s$, *n* = 3)

组别	剂量 / (μ mol·L ⁻¹)	存活率	组别	剂量 / (μ mol·L ⁻¹)	存活率
对照组	—	0.87 ± 0.11	模型组	—	0.32 ± 0.04 ^{△△}
1	500	0.10 ± 0.05	6	500	0.43 ± 0.12**
	50	0.09 ± 0.06		50	0.12 ± 0.05
	5	0.11 ± 0.02		5	0.13 ± 0.06
	0.5	0.11 ± 0.01		0.5	0.11 ± 0.02
2	500	0.75 ± 0.12**	7	500	0.22 ± 0.12
	50	0.58 ± 0.07		50	0.18 ± 0.03
	5	0.51 ± 0.04		5	0.19 ± 0.06
	0.5	0.44 ± 0.02		0.5	0.17 ± 0.04
3	500	0.49 ± 0.13**	8	500	0.41 ± 0.03**
	50	0.18 ± 0.15		50	0.18 ± 0.01
	5	0.20 ± 0.06		5	0.21 ± 0.02
	0.5	0.17 ± 0.08		0.5	0.20 ± 0.04
4	500	0.84 ± 0.05**	9	500	0.19 ± 0.05
	50	0.17 ± 0.03		50	0.18 ± 0.01
	5	0.12 ± 0.02		5	0.14 ± 0.03
	0.5	0.12 ± 0.04		0.5	0.20 ± 0.05
5	500	0.19 ± 0.07	10	500	0.19 ± 0.04
	50	0.10 ± 0.05		50	0.19 ± 0.02
	5	0.12 ± 0.02		5	0.18 ± 0.04
	0.5	0.13 ± 0.05		0.5	0.21 ± 0.06

与对照组比较: ^{△△}*P* < 0.01; 与模型组比较: ***P* < 0.01

^{△△}*P* < 0.01 vs control group; ***P* < 0.01 vs model group

可见, 体外抗氧化活性强的化合物对 H_2O_2 造成的 PC12 细胞的凋亡保护作用越明显, 因此推测, 化合物通过抗氧化作用达到对 PC12 细胞的保护作用。

参考文献

- [1] 杜红岩. 杜仲优质高产栽培 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1996.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] 李芳东, 杜红岩. 杜仲 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001.
- [4] Zhang Q, Su Y Q, Yang F X, *et al.* Antioxidative activity of water extracts from leaf, male flower, raw cortex and fruit of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *Forest Prod J*, 2007, 57: 74-78.
- [5] 叶东旭, 杜红岩, 李 钦, 等. 杜仲雄花 HPLC 指纹图谱及成分积累规律研究 [J]. 中成药, 2012, 34(4): 706-709.
- [6] 董娟娥, 梁宗锁, 张康健, 等. 杜仲雄花中次生代谢物合成积累的动态变化 [J]. 植物资源与环境学报, 2005, 14(4): 7-10.
- [7] 孙兰萍, 马 龙, 张 斌, 等. 杜仲中黄酮类化合物的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2009, 30(3): 359-363.
- [8] 吴 春, 胡小妹, 陈林林, 等. 杜仲黄酮的提取及抗氧化活性研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2004, 20(5): 509-511.
- [9] Vattam D A, Lin Y T, Labbe R G, *et al.* Phenolic antioxidant mobilization in cranberry pomace by solid-state bioprocessing using food grade fungus *Lentinus edodes* and effect on antimicrobial activity against select food borne pathogens [J]. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 2004, 5(1): 81-91.
- [10] 王学贵, 沈丽淘, 徐 汉, 等. 珍珠莲中的黄酮类化学成分 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 526-529.
- [11] 曾 红, 钱慧琴, 梁兆昌, 等. 云锦杜鹃枝叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3123-3126.
- [12] 张铁军, 王丽莉. 荆三棱化学成分研究 (I) [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(1): 36-38.
- [13] Kim H Y, Moon B H, Lee H J, *et al.* Flavonol glycosides from the leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv. with glycation inhibitory activity [J]. *J Ethnopharmacol*, 2004, 93: 227-230.
- [14] 刘海洋, 何红萍, 杨献文, 等. 蜡菊花的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(3): 423-426.
- [15] Shi T X, Li Y G, Jiang Y, *et al.* Isolation of flavonoids from the aerial parts of *Polygala tenuifolia* Willd. and their antioxidant activities [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2013, 22: 36-39.
- [16] 陈 秋, 王 涛, 葛丹丹, 等. 火绒草黄酮类成分的分离与鉴定 (II) [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(2): 104-108.
- [17] 陈 剑, MANGELINCKX Sven, 吕 寒, 等. 白子菜醋酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 524-527.
- [18] Wang H, Joseph J A. Structure-activity relationships of quercetin in antagonizing hydrogen peroxide-induced calcium dysregulation in PC12 cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27(5/6): 683-694.