

兴安毛连菜中有机酸化学成分及其抗氧化活性的研究

陶 鑫¹, 许 枏^{1*}, 王秀兰², 郭 娜¹, 陈 俏¹

1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600

2. 内蒙古民族大学药学院, 内蒙古 通辽 028000

摘 要:目的 研究兴安毛连菜 *Picris davurica* 地上部分的化学成分, 并进行初步活性评价。方法 采用 MCI、Sephadex LH-20 和 ODS 柱色谱分离化合物, 运用 NMR 等波谱法鉴定了化合物结构, 通过清除 DPPH 实验探讨抗氧化活性。结果 从兴安毛连菜 60%乙醇提取部分分离得到 11 个咖啡酸衍生化合物, 分别鉴定为咖啡酸 (1)、咖啡酰酒石酸 (2)、绿原酸 (3)、二咖啡酰酒石酸 (4)、5-咖啡酰基莽草酸 (5)、3,4-二咖啡酰基奎宁酸 (6)、3,5-二咖啡酰基奎宁酸 (7)、4,5-二咖啡酰基奎宁酸 (8)、4-咖啡酰基奎宁酸 (9)、5-咖啡酰基奎宁酸 (10)、3,4-dihydroxy-6-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-2-pyrone-3-*O*- β -D-glucopyranoside (11)。结论 所有化合物均为首次从该植物中分离得到, 且显示具有一定的抗氧化活性。

关键词: 兴安毛连菜; 咖啡酸; 绿原酸; 5-咖啡酰基莽草酸; 3,4-二咖啡酰基奎宁酸; 抗氧化

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)04-0544-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.04.003

Organic acids derived from *Picris davurica* and their anti-oxidative activity

TAO Xin¹, XU Nan¹, WANG Xiu-lan², GUO Na¹, CHEN Qiao¹

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

2. School of Pharmacy, Inner Mongolia University for the Nationality, Tongliao 028000, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the aerial part of *Picris davurica* and their anti-oxidative activity. **Methods** Compounds were isolated by column chromatography of MCI, Sephadex LH-20, and ODS; Their structures and anti-oxidative activity were elucidated by NMR, MS, and DPPH methods. **Results** On the basis of 1D-NMR, 2D-NMR, and ESI-MS data, eleven compounds were identified as caffeic acid (1), caftaric acid (2), chlorogenic acid (3), chicoric acid (4), 5-*O*-caffeoylshikimic acid (5), 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid (6), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (7), 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (8), 4-*O*-caffeoylquinic acid (9), 5-*O*-caffeoylquinic acid (10), and 3,4-dihydroxy-6-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-2-pyrone-3-*O*- β -D-glucopyranoside (11). **Conclusion** All the compounds reported in this study are isolated from the aerial part of *P. hieracioides* for the first time and show certain anti-oxidative activity.

Key words: *Picris davurica* Fish.; caffeic acid; chlorogenic acid; 5-*O*-caffeoylshikimic acid; 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid; anti-oxidation

蒙药毛连菜为兴安毛连菜 *Picris davurica* Fish. 的地上部分或全草, 主要分布于我国大兴安岭北部、辽河平原、科尔沁草原等地, 蒙文名为“希日图如”^[1]。《认药白晶鉴》称本品“比紫菀稍大, 并具木质块根, 开黄色花, 气臭, 花瓣如并列的剑”。结合《无误蒙药鉴》的植物形态描述、附图特征及蒙医使用的经验, 现已确定历代蒙医药文献所载的毛连菜的植物来源为兴安毛连菜^[2]。毛连菜在蒙医临床主治黏疫、白喉、乳腺炎、腮腺炎、脑刺痛等

病, 代表性方剂为七味毛连菜丸^[2]。该药虽然是蒙药的特色药, 为《蒙药部颁标准》收录的仅有 26 味蒙药之一, 但其化学成分并不清楚, 相关活性研究也很少^[3]。前期研究发现兴安毛连菜含有酚酸类成分。由于多酚和植物酸具有潜在的降血糖活性和抗氧化等活性^[4], 使得兴安毛连菜的开发和研究更具意义。为深入揭示毛连菜的活性成分, 本实验对其化学成分和抗氧化活性进行了研究, 首次分离得到 11 个咖啡酸衍生物, 分别鉴定为咖啡酸 (caffeic

收稿日期: 2015-10-11

作者简介: 陶 鑫, 女, 硕士研究生, 从事天然化学成分研究。Tel: (0411)85890191 E-mail: 1594446575@qq.com

*通信作者 许 枏, 女, 教授, 从事中药有效成分及其质量研究。Tel: (0411)85890191 E-mail: xudanbs@163.com

acid, 1)、咖啡酰酒石酸 (caftaric acid, 2)、绿原酸 (chlorogenic acid, 3)、二咖啡酰酒石酸 (chicoric acid, 4)、5-咖啡酰基莽草酸 (5-*O*-caffeoylshikimic acid, 5)、3,4-二咖啡酰基奎宁酸 (3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid, 6)、3,5-二咖啡酰基奎宁酸 (3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, 7)、4,5-二咖啡酰基奎宁酸 (4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, 8)、4-咖啡酰基奎宁酸 (4-*O*-caffeoylquinic acid, 9)、5-咖啡酰基奎宁酸 (5-*O*-caffeoylquinic acid, 10)、3,4-dihydroxy-6-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-2-pyrone-3-*O*- β -D-glucopyranoside (11)。所有化合物均为首次从该植物中分离得到, 活性评价表明这些化合物均具有一定的抗氧化活性。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE-600 与 Bruker AVANCE-400 超导核磁共振仪 (瑞士布鲁克公司); HP20 大孔吸附树脂 (日本三菱公司); MCI 凝胶和 Sephadex LH-20 凝胶 (瑞士法玛西亚公司); 色谱柱 YMC-Pack ODS-AQ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)。分析纯或化学纯试剂 (天津科密欧试剂有限公司), 色谱甲醇和乙腈 (Fisher 公司), 水为娃哈哈纯净水; 氘代试剂 (北京恒思公司); 抗坏血酸 (AR 级, 批号 20110922) 购自国药集团化学试剂有限公司。2,2-联苯基-1-苦基肼基 (DPPH, 阿法埃莎天津化学有限公司)。

兴安毛连菜采自通辽罕山, 经内蒙古民族大学王秀兰教授鉴定为兴安毛连菜 *Picris davurica* Fish.。

2 方法

2.1 活性部位的筛选

取兴安毛连菜 3 份, 每份 1 kg, 分别以醋酸乙酯、95%乙醇、60%乙醇、水提取 3 次, 回收溶剂, 得到不同溶剂提取物, 以清除 DPPH 能力比较各部位抗氧化活性, 筛选兴安毛连菜的抗氧化活性部位。由结果可知, 60%乙醇提取物的抗氧化活性最强, 其 IC_{50} 值为 0.055 g/L, 95%乙醇提取物、水及醋酸乙酯提取物的 IC_{50} 值较高, 分别为 0.067、0.220 和 0.097 g/L (对照品抗坏血酸的 IC_{50} 值为 0.025 g/L)。

2.2 提取与分离

取干燥的兴安毛连菜 (8 kg), 用 10 倍量的 60%乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h, 减压回收溶剂, 得浸膏 390 g, 经 HP20 大孔吸附树脂柱色谱, 依次以水及 30%、50%、70%、95%乙醇洗脱, 收集洗脱液 (每个梯度收集 120 L), 浓缩。其中 30%乙醇的洗

脱部分 (50 g) 加水充分溶解, 经 MCI 凝胶柱色谱, 以水及 10%、50%、70%丙酮依次洗脱, 收集流分, 以聚酰胺薄层色谱分析, 合并浓缩, 得 4 个组分 (I~IV)。组分 I (6.2 g, MCI 柱水洗脱部分) 经反复 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化 (以 80%甲醇为洗脱剂), 得化合物 1 (50 mg)、2 (25 mg)、3 (30 mg)、4 (22 mg)。组分 II (8.4 g, MCI 柱 10%丙酮洗脱部分) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化后 (以 80%甲醇为洗脱剂), 再经制备液相色谱 (ODS 柱), 以 0.1%磷酸水溶液-甲醇 (73:27) 为流动相洗脱, 得化合物 5 (50 mg)、6 (65 mg)、7 (55 mg)。组分 III (16.3 g, MCI 柱 50%丙酮洗脱部分) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化后 (以 80%甲醇为洗脱剂), 再经制备液相色谱, 以 0.1%磷酸水溶液-甲醇 (65:35) 为流动相洗脱, 得化合物 8 (30 mg)、9 (21 mg)、10 (15 mg)、11 (22 mg)。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 179 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.03 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.72 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.92 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 7.52 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 6.22 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 128.3 (C-1), 115.1 (C-2), 148.6 (C-3), 145.4 (C-4), 115.1 (C-5), 126.8 (C-6), 149.3 (C-7), 113.6 (C-8), 171.5 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 1 为咖啡酸。

化合物 2: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 311 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, D_2O) δ : 7.11 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.84 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 7.01 (1H, dd, $J = 2.1, 8.2$ Hz, H-6'), 7.61 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 6.33 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'), 5.51 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-2), 4.82 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, D_2O) δ : 126.8 (C-1'), 115.2 (C-2'), 144.2 (C-3'), 147.3 (C-4'), 116.2 (C-5'), 122.9 (C-6'), 147.4 (C-7'), 113.2 (C-8'), 168.2 (C-9'), 173.9 (C-1), 70.3 (C-2), 74.2 (C-3), 171.4 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 2 为咖啡酰酒石酸。

化合物 3: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 339 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, D_2O) δ : 7.19

(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.95 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.12 (1H, dd, $J = 2.1, 8.2$ Hz, H-6), 7.61 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 6.35 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 2.20 (4H, m, H-2', 6'), 4.26 (1H, m, H-3'), 3.91 (1H, dd, $J = 3.1, 9.0$ Hz, H-4'), 5.30 (1H, m, H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, D_2O) δ : 126.9 (C-1), 115.1 (C-2), 144.2 (C-3), 147.1 (C-4), 116.2 (C-5), 122.7 (C-6), 146.2 (C-7), 114.4 (C-8), 168.7 (C-9), 75.0 (C-1'), 36.5 (C-2'), 69.2 (C-3'), 71.4 (C-4'), 70.7 (C-5'), 36.5 (C-6'), 173.9 (C-7')。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为绿原酸。

化合物 **4**: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 473 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, D_2O) δ : 7.11 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2', 2''), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5', 5''), 7.03 (1H, dd, $J = 2.1, 8.0$ Hz, H-6', 6''), 7.61 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7', 7''), 6.35 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8', 8''), 5.40 (2H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2, 3); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, D_2O) δ : 126.9 (C-1', 1''), 115.1 (C-2', 2''), 144.1 (C-3', 3''), 147.0 (C-4', 4''), 116.1 (C-5', 5''), 122.7 (C-6', 6''), 146.6 (C-7', 7''), 113.9 (C-8', 8''), 168.3 (C-9', 9''), 74.2 (C-2, 3), 173.0 (C-1, 4)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **4** 为二咖啡酰基酒石酸。

化合物 **5**: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 359.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 695.0 $[2\text{M}+\text{Na}]^+$, 335.0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.86 (1H, m, H-2), 4.41 (1H, m, H-3), 3.91 (1H, m, H-4), 5.25 (1H, m, H-5), 2.86 (1H, dd, $J = 18.5, 4.4$ Hz, H-6a), 2.32 (1H, dd, $J = 18.5, 4.4$ Hz, H-6b), 7.05 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.96 (1H, dd, $J = 2.1, 8.0$ Hz, H-6'), 7.57 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 6.28 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 130.9 (C-1), 139.5 (C-2), 71.8 (C-3), 70.5 (C-4), 67.9 (C-5), 29.8 (C-6), 170.3 (C-7), 128.3 (C-1'), 117.1 (C-2'), 147.4 (C-3'), 150.2 (C-4'), 115.8 (C-5'), 123.6 (C-6'), 147.9 (C-7'), 115.7 (C-8'), 169.2 (C-9')。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为 5-咖啡酰基莽草酸。

化合物 **6**: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 515.5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 2.24 (2H, m, H-2), 5.63 (1H, m, H-3), 5.12 (1H, m, H-4), 4.37 (1H, m, H-5), 2.22 (2H, m, H-6), 6.90 (2H, m, H-2', 2''), 6.78 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5', 5''), 6.97

(2H, dd, $J = 1.7, 7.9$ Hz, H-6', 6''), 7.59 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.51 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7''), 6.18 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.28 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 76.1 (C-1), 39.4 (C-2), 69.0 (C-3), 75.8 (C-4), 69.4 (C-5), 38.4 (C-6), 176.8 (C-7), 127.8 (C-1', 1''), 115.2 (C-2', 2''), 146.9 (C-3', 3''), 149.8 (C-4', 4''), 116.7 (C-5', 5''), 123.1 (C-6'), 123.0 (C-6''), 147.5 (C-7', 7''), 114.6 (C-8'), 114.8 (C-8''), 168.5 (C-9'), 168.1 (C-9'')。以上数据与文献报道基本一致^[8-9], 故鉴定化合物 **6** 为 3,4-二咖啡酰基奎宁酸。

化合物 **7**: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 515.5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 2.20 (2H, m, H-2), 5.44 (1H, m, H-3), 4.00 (1H, m, H-4), 5.40 (1H, m, H-5), 2.32 (2H, m, H-6), 7.08 (2H, m, H-2', 2''), 6.98 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5', 5''), 6.80 (2H, dd, $J = 1.7, 7.9$ Hz, H-6', 6''), 7.62 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.57 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7''), 6.27 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.35 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 74.8 (C-1), 36.9 (C-2), 72.1 (C-3), 69.9 (C-4), 72.3 (C-5), 35.8 (C-6), 175.9 (C-7), 128.0 (C-1'), 127.9 (C-1''), 115.4 (C-2', 2''), 146.8 (C-3', 3''), 147.9 (C-4'), 147.7 (C-4''), 116.7 (C-5', 5''), 123.2 (C-6'), 123.1 (C-6''), 147.0 (C-7'), 147.1 (C-7''), 115.2 (C-8'), 115.0 (C-8''), 168.1 (C-9'), 168.2 (C-9'')。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为 3,5-二咖啡酰基奎宁酸。

化合物 **8**: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 515.5 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 2.20 (2H, m, H-2), 4.33 (1H, m, H-3), 5.04 (1H, m, H-4), 5.61 (1H, m, H-5), 2.23 (2H, m, H-6), 7.01 (2H, m, H-2', 2''), 6.79 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5', 5''), 6.88 (2H, dd, $J = 2.1, 8.0$ Hz, H-6', 6''), 7.54 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.55 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7''), 6.25 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8', 8''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 75.2 (C-1), 36.9 (C-2), 66.1 (C-3), 69.9 (C-4), 69.9 (C-5), 41.3 (C-6), 175.2 (C-7), 127.2 (C-1'), 127.9 (C-1''), 114.9 (C-2', 2''), 146.8 (C-3', 3''), 149.6 (C-4'), 149.7 (C-4''), 116.4 (C-5', 5''), 123.1 (C-6'), 123.3 (C-6''), 147.3 (C-7'), 147.4 (C-7''), 115.1 (C-8'), 115.2 (C-8''), 168.5 (C-9'), 168.6 (C-9'')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **8** 为 4,5-

二咖啡酰奎宁酸。

化合物 **9**: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 355 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 2.23 (2H, m, H-2), 4.30 (1H, m, H-3), 5.12 (1H, m, H-4), 4.39 (1H, m, H-5), 2.24 (2H, m, H-6), 7.01 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.76 (1H, dd, $J = 2.1, 8.0$ Hz, H-5'), 6.98 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 7.62 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 6.26 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 75.3 (C-1), 38.0 (C-2), 67.2 (C-3), 73.9 (C-4), 68.6 (C-5), 35.2 (C-6), 175.2 (C-7), 127.7 (C-1'), 115.2 (C-2'), 146.8 (C-3'), 149.7 (C-4'), 116.5 (C-5'), 123.0 (C-6'), 147.1 (C-7'), 115.1 (C-8'), 168.3 (C-9')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **9** 为 4-咖啡酰基奎宁酸。

化合物 **10**: 淡黄色粉末, 三氯化铁显蓝色。ESI-MS m/z : 355 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 2.28 (2H, m, H-2), 5.55 (1H, m, H-3), 4.12 (1H, m, H-4), 4.30 (1H, m, H-5), 2.21 (2H, m, H-6), 7.01 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.76 (1H, dd, $J = 2.1, 8.0$ Hz, H-5'), 6.92 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 7.60 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 6.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 75.7 (C-1), 38.0 (C-2), 72.0 (C-3), 70.8 (C-4), 67.8 (C-5), 37.6 (C-6), 175.4 (C-7), 127.7 (C-1'), 115.1 (C-2'), 146.8 (C-3'), 149.6 (C-4'), 116.5 (C-5'), 122.9 (C-6'), 147.1 (C-7'), 115.0 (C-8'), 168.2 (C-9')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **10** 为 5-咖啡酰基奎宁酸。

化合物 **11**: 无色粉末, 三氯化铁显蓝色。HR-MS m/z : 424.100 6, ESI-MS m/z : 423 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, D_2O) δ : 6.11 (1H, s, H-5), 6.99 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.74 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.90 (1H, dd, $J = 2.1, 8.0$ Hz, H-6'), 6.98 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7'), 6.60 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8'), 4.67 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (150 MHz, D_2O) δ : 160.5 (C-2), 122.7 (C-3), 162.3 (C-4), 103.5 (C-5), 154.5 (C-6), 127.1 (C-1'), 113.9 (C-2'), 145.5 (C-3'), 146.9 (C-4'), 115.7 (C-5'), 119.9 (C-6'), 132.9 (C-7'), 116.4 (C-8'), 104.2 (C-1''), 73.7 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.6 (C-4''), 77.2 (C-5''), 60.8 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **11** 为 3,4-dihydroxy-6-(3,4-dihydroxy-*E*-styryl)-2-pyrone-3-*O*- β -D-glucopyranoside。

3.2 抗氧化活性

参照文献方法^[12], 精密称取 DPPH 7.9 mg 于 200 mL 量瓶中, 加 95%乙醇溶解, 配制成 0.1 mmol/L 溶液。以 95%乙醇为空白, 取不同质量浓度的供试品溶液 (以咖啡酸为例: 0.01、0.02、0.04、0.08、0.12、0.16、0.20、0.24 mg/mL) 0.5 mL, 分别与 3 mL 的 DPPH 溶液反应。采用紫外-可见分光光度法于 515 nm 处测定吸光度 (A) 值, 根据公式计算清除率。

$$\text{清除率} = 1 - (A_i - A_j) / A_C$$

A_i 为被测样品加 DPPH 的 A 值, A_j 为被测样品加空白溶剂的 A 值, A_C 为 DPPH 溶液加空白溶剂的 A 值

半数抑制浓度 (IC_{50}) 指清除率为 50% 时所需抗氧化剂的质量浓度, 根据化合物不同质量浓度的清除率绘制量效曲线, 计算 IC_{50} 。结果显示, 化合物 **1~8** 的 IC_{50} 值分别为 0.035、0.033、0.042、0.047、0.062、0.071、0.064 和 0.079 g/L, 对照品抗坏血酸的 IC_{50} 值为 0.029 g/L, 化合物 **9~11** 的量较小, 未测出 IC_{50} 。

4 讨论

氧化是很多疾病的病因, 利用物质对自由基的清除作用来表征其抗氧化活性是普遍采用的方法。本实验从兴安毛连菜中共分离得到 11 个咖啡酸衍生物, 其中咖啡酰酒石酸的抗氧化性最强, 其次是二咖啡酰酒石酸与绿原酸, 为兴安毛连菜的抗氧化活性研究奠定了基础。但本实验只做了一种体外实验, 还需用多种体内外实验进行验证, 进一步确认各化合物的抗氧化活性及其机制。

参考文献

- [1] 王冰, 王飞, 刘丽, 等. 兴安毛连菜染色体的核型分析 [J]. 中药材, 2003, 26(5): 317-318.
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草 (蒙药卷) [M]. 上海: 上海科技出版社, 2004.
- [3] 中华人民共和国卫生部药品标准 蒙药部 [S]. 1998.
- [4] Itoh T, Kita N, Kurokawa Y, et al. Suppressive effect of a hot water extract of adzuki beans (*Vigna angularis*) on hyperglycemia after sucrose loading in mice and diabetic rats [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2004, 68(12): 2421-2426.
- [5] 刘俊霞, 侯微, 窦凤鸣, 等. 五味子藤茎正丁醇部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(13): 1878-1882.
- [6] Ou Z Q, Schmierer D M, Radesc T, et al. Application of an online post-column derivatization HPLC-DPPH assay

- to detect compounds responsible for antioxidant activity in *Sonchus oleraceus* L. leaf extracts [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(2): 271-279.
- [7] Veit M, Weidner C, Strack D, *et al.* The distribution of caffeic acid conjugates in the Equisetaceae and some ferns [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(10): 3483-3485.
- [8] 关焕玉, 兰燕宇, 廖尚高, 等. 羊耳菊中咖啡酰基奎宁酸类化学成分研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2014, 26(12): 1948-1952.
- [9] 王 珏, 王乃利, 姚新生, 等. 小花鬼针草中咖啡酰奎宁酸类成分及其抑制组胺释放活性 [J]. *中草药*, 2006, 37(7): 966-701.
- [10] 李 阳, 张春云, 林 挺, 等. 白花地胆草的化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(11): 1751-1756.
- [11] Veit M, Geiger H, Wray V, *et al.* Equisetumpyrone, a styrylpyrone glucoside in gametophytes from *Equisetum arvense* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(4): 1029-1032.
- [12] Zhu X F, Zhang H X, Lo R, *et al.* Phenolic compounds from the leaf extract *Artichoke* (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(24): 7272-7278.