

羌活中香豆素类化学成分及其抗氧化活性研究

刘文武¹, 蒋晓文², 张 帅², 祖宇欣², 赵庆春^{1*}

1. 北部战区总医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110840

2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

摘 要: 目的 研究羌活 *Notopterygium incisum* 中的香豆素类化学成分及其抗氧化活性。方法 采用重结晶、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱以及制备 HPLC 等多种分离手段进行分离纯化, 通过现代波谱学方法鉴定结构, 并采用 DPPH 法和 ABTS 法对分离得到的化合物进行抗氧化活性测试。结果 从羌活 70%乙醇提取物中的二氯甲烷萃取层分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为佛手酚(1)、中甸前胡素(2)、镰叶芹二醇(3)、苯乙基阿魏酸酯(4)、丝立尼亭(5)、拱当归素(6)、羌活酚(7)、紫花前胡昔元(8)、(+)-*cis*-khellactone(9)、水合氧化前胡素(10), 并经 2 种不同的方法测试了这类化合物的抗氧化活性。结论 化合物 2、6 为首次从该植物中分离得到; 经 DPPH 法和 ABTS 法测试发现化合物 1 和 7 具有较强的抗氧化能力; 构效关系分析发现 5 位上具有 -OH, 多烯烃结构的呋喃环香豆素具有比其他香豆素类化合物更强的抗氧化活性。

关键词: 羌活; 香豆素类; 佛手酚; 中甸前胡素; 拱当归素; 羌活酚; 抗氧化活性; 构效关系

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)06-1310-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.06.007

Chemical constituents of coumarins compounds from *Notopterygium incisum* and their anti-oxidant activity

LIU Wen-wu¹, JIANG Xiao-wen², ZHANG Shuai², ZU Yu-xin², ZHAO Qing-chun¹

1. Department of Pharmacy, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110840, China

2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To investigate the coumarin compounds from *Notopterygium incisum* and their anti-oxidant activities. **Methods** The coumarin compounds and their analogues were separated and purified by recrystallization, silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, and preparative HPLC. The structure was identified by modern spectroscopy. The isolated compound was tested for anti-oxidant activity by DPPH and ABTS assay. **Results** Ten compounds were isolated from the dichloromethane extraction layer of 70% ethanol extract, which were identified as bergaptol (1), d-laserpitin (2), falcariindiol (3), phenethyl ferulate (4), selinidin (5), archangelicin (6), notoptol (7), nodakenetin (8), (+)-*cis*-khellactone (9), and oxypeucedanin hydrate (10). The anti-oxidant activity of these compounds was tested by DPPH and ABTS methods. **Conclusion** Compounds 2 and 6 are isolated from this plant for the first time. Compounds 1 and 7 have shown the strongest anti-oxidant activity. The structure-activity relationship (SAR) studies revealed the -OH and unsaturated double bond on C-5' in the aromatic ring significantly improved the anti-oxidant activity than other coumarin compounds.

Key words: *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang; coumarins; bergaptol; d-laserpitin; archangelicin; notoptol antioxidant activity; structure-activity relationship

羌活为伞形科植物羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang 或宽叶羌活 *Notopterygium forbesii* Boiss 的干燥根茎, 春、秋两季采挖, 除去泥土及须根, 晒干或烘干。羌活为多年生草本, 野

生于海拔 1 700~4 500 m 的林缘及灌木丛中, 分布于陕西、甘肃、青海、四川、云南等省。药用历史悠久, 始见于《神农本草经》列于独活项下。其性温, 味辛、苦, 具有散寒、祛风、除湿、止痛之功

收稿日期: 2019-02-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81673328)

作者简介: 刘文武, 男, 硕士研究生, 从事天然药物化学研究。E-mail: 997047610@qq.com

*通信作者 赵庆春, 男, 博士生导师, 研究方向为基于靶点的天然活性产物的发现及作用机制研究。

Tel: (024)28856205 E-mail: Zhaoqingchun1967@163.com

效。羌活与宽叶羌活的根（根茎）主要用于治疗风寒感冒头痛、风湿痹痛、肩背酸痛等症，疗效确切，是许多著名的中医名方和成药的组方药物，入方中（藏）成药达 200 多种，其中以其为主药的九味羌活丸和羌活胜湿汤分别为风寒解表和祛风除湿之经典方。近年研究发现其具有抗休克、抗心律失常、缓解心肌缺血、镇痛等作用^[1]。国内外学者对羌活的化学成分进行了系统研究，主要含有挥发油、香豆素、有机酸、氨基酸、糖类等化学成分，其中香豆素类成分有羌活酚、羌活酚缩醛、环氧脱水羌活酚、佛手内酯、紫花前胡苷、异欧前胡素、珊瑚菜内酯等^[2-7]。为了进一步探索羌活中的活性成分，为其有效部位和单体化合物的药理学研究奠定基础，本实验对羌活的化学成分进行了进一步研究，运用重结晶、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱和反相制备 HPLC 等多种分离手段，从羌活 70%乙醇提取物的二氯甲烷层中共分离得到 10 个化合物，分别鉴定为佛手酚（bergaptol, **1**）、中甸前胡素（*d*-laserpitin, **2**）、镰叶芹二醇（falcariindiol, **3**）、苯乙基阿魏酸酯（phenethyl ferulate, **4**）、丝立尼亭（selinidin, **5**）、拱当归素（archangelicin, **6**）、羌活酚（notoptol, **7**）、紫花前胡苷元（nodakenetin, **8**）、(+)-*cis*-khellactone (**9**)、水合氧化前胡素（oxypeucedanin hydrate, **10**)。其中化合物 **2**、**5**、**6**、**9** 为角型吡喃香豆素；化合物 **1**、**7**、**8**、**10** 为线型呋喃香豆素。化合物 **2**、**6** 为首次从该植物中分离得到。使用自由基清除模型 DPPH 法和 ABTS 法对已分离的化合物进行抗氧化活性测试发现，化合物 **1** 和 **7** 在 DPPH 抗氧化实验中均显示出与阳性药维生素 C 相当的活性，在 ABTS 抗氧化实验中，化合物 **1** 和 **7** 均显示出比阳性药 Trolox 更强的抗氧化活性。

1 仪器与材料

JASCO 制备型高效液相色谱仪（PU-2087 加压机，SPD-10AV 紫外检测器），日本分光株式会社；Bruker ARX-300 核磁共振光谱仪，瑞士 Bruker 公司；EYELAN-1000、N-1100 旋转蒸发仪，日本东京理化公司；Shimadzu 分析天平，日本 Shimadzu 公司；HH-D4 数显恒温水浴锅，巩义市英峪予华公司；制备反相色谱柱 YMC-Pack Pro ODS-A C₁₈（250 mm×10 mm，10 μm），日本 YMC 公司；分析型色谱柱 Diamonsil C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μm）；薄层色谱硅胶和柱色谱硅胶（100~140、200~300 目），青岛海洋化工厂；Sephadex LH-20，美国 Pharmacia

公司；氘代试剂，美国 CIL 公司；HPLC 使用的试剂为色谱纯，美国 Sigma 公司；其他化学试剂均为分析纯；DPPH 试剂盒，索莱宝公司；ABTS 试剂盒，碧云天公司。

药材于 2014 年 3 月购自辽宁省沈阳市，原产地为四川，经沈阳药科大学路金才教授鉴定为羌活 *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang，标本保存于北部战区总医院药剂科。

2 提取与分离

羌活药材 10 kg，10 倍量的 70%乙醇水溶液浸泡过夜，加热回流提取 3 次，每次 2 h，合并提取液，减压回收溶剂得到浓缩浸膏。将浸膏分散于适量水中，依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯和正丁醇萃取。减压回收溶剂得到石油醚萃取物（100 g）、二氯甲烷萃取物（200 g）、醋酸乙酯萃取物（110 g）和正丁醇萃取物（120 g）。

对二氯甲烷萃取层（200 g）进行硅胶柱色谱分离，以石油醚-醋酸乙酯（100：0→50：50）进行梯度洗脱，得到 11 组分 Fr. 1~11。对 Fr. 5 进行硅胶柱色谱，采用石油醚-醋酸乙酯（100：0→50：50）梯度洗脱，得到流分 Fr. 5-4，经制备 HPLC 分离得到化合物 **3**（27 mg）；对 Fr. 7 进行硅胶柱色谱，采用石油醚-醋酸乙酯（100：0→50：50）梯度洗脱，得到的流分 Fr. 7-4 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离，得到 3 个流分 Fr. 7-4-3、7-4-5、7-4-8。其中组分 Fr. 7-4-3 经制备 HPLC 分离得到化合物 **4**（19 mg），流分 Fr. 7-4-5 经制备 HPLC 分离得到化合物 **5**（300 mg），组分 Fr. 7-4-8 经制备 HPLC 分离得到化合物 **6**（18 mg）。对 Fr. 9 进行硅胶柱色谱，采用石油醚-醋酸乙酯系统（100：0→50：50）梯度洗脱，得到 3 个组分 Fr. 9-1、9-5、9-7。其中组分 Fr. 9-1 经重结晶得到化合物 **1**（30 mg），流分 Fr. 9-5 经制备 HPLC 分离得到化合物 **2**（13 mg），流分 Fr. 9-7 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离，得到流分 Fr. 9-5-3、Fr. 9-5-4。其中流分 Fr. 9-5-3 经制备 HPLC 分离得到化合物 **7**（38 mg），流分 Fr. 9-5-4 经制备 HPLC 分离得到化合物 **9**（14 mg）。对 Fr. 11 进行硅胶柱色谱，采用石油醚-醋酸乙酯系统（100：0→50：50）梯度洗脱，得到 2 个流分 Fr. 11-3、Fr. 11-4。其中流分 Fr. 11-3 经制备 HPLC 分离得到化合物 **8**（12 mg），流分 Fr. 11-4 经制备 HPLC 分离得到化合物 **10**（10 mg）。

3 结构鉴定

化合物 **1**：淡黄色针晶（醋酸乙酯），C₁₅H₆O₄，

紫外灯 365 nm 下有蓝色荧光, 硫酸乙醇显色剂显灰黑色。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.23 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-3), 8.23 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-4), 7.13 (1H, s, H-8), 7.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.89 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-3'), 11.2 (1H, s, OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 160.4 (C-2), 110.9 (C-3), 139.7 (C-4), 104.6 (C-4a), 152.6 (C-5), 112.4 (C-6), 157.0 (C-7), 90.8 (C-8), 147.8 (C-8a), 144.9 (C-2'), 104.7 (C-3')。以上数据与文献中报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **1** 为佛手酚。

化合物 **2**: 淡黄色玻璃状晶体, $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_6$, 紫外灯 365 nm 下呈紫色荧光。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.23 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.78 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), δ 7.31 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.76 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 4.11 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-3'), 6.49 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-4'), 1.49 (3H, s, H-8'), 1.45 (3H, s, H-9'), 6.02~6.12 (1H, m, H-7'), 2.01 (3H, s, H-10'), 1.90 (3H, s, H-11'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 162.1 (C-2), 113.2 (C-3), 145.7 (C-4), 130.7 (C-5), 115.8 (C-6), 158.4 (C-7), 109.4 (C-8), 155.4 (C-9), 113.7 (C-10), 80.0 (C-2'), 71.6 (C-3'), 63.6 (C-4'), 26.3 (C-8'), 21.4 (C-9'), 168.8 (C-5'), 129.5 (C-7'), 138.0 (C-6'), 20.7 (C-11'), 15.9 (C-10')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **2** 为中甸前胡素。

化合物 **3**: 无色油状物, $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.92 (1H, ddd, $J = 17.1, 10.2, 5.2$ Hz, H-2), 5.64 (1H, dd, $J = 15.4, 6.5$ Hz, H-10), 5.52 (1H, t, $J = 5.1$ Hz, H-9), 5.43 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-1a), 5.24 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-1b), 5.18 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-8), 4.91 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-3), 2.02 (1H, dt, $J = 15.4, 6.5$ Hz, H-11), 0.90 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, H-17); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 117.5 (C-1), 135.9 (C-2), 63.6 (C-3), 80.1 (C-4), 70.4 (C-5), 68.8 (C-6), 78.4 (C-7), 58.7 (C-8), 127.7 (C-9), 134.7 (C-10), 27.8 (C-11), 29.4 (C-12), 29.3 (C-13), 29.2 (C-14), 31.9 (C-15), 22.7 (C-16), 14.2 (C-17)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **3** 为镰叶芹二醇。

化合物 **4**: 无色黏稠液体, $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_4$, 紫外灯 254 nm 下有明显暗斑。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.60 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 7.29 (2H, m, H-2', 6'), 7.24 (3H, m, H-3'~5'), 7.00 (1H, d, $J = 1.8$ Hz,

H-2), 7.04 (1H, dd, $J = 7.8, 1.8$ Hz, H-6), 6.90 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 6.25 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8), 4.40 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8'), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 3.00 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 167.2 (C-9), 148.1 (C-4), 146.7 (C-3), 144.9 (C-7), 137.9 (C-1'), 128.9 (C-2', 6'), 128.5 (C-3', 5'), 127.0 (C-1), 126.5 (C-4'), 123.1 (C-6), 115.4 (C-2), 114.7 (C-8), 109.3 (C-5), 64.6 (C-8'), 55.9 (OCH₃), 35.2 (C-7')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **4** 为苯乙基阿魏酸酯。

化合物 **5**: 橙色玻璃状结晶 (醋酸乙酯), $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{O}_5$, 紫外灯 365 nm 下呈蓝紫色荧光, 推测可能是香豆素类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.24 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 7.64 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 7.27 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.80 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.21 (1H, t, $J = 5.2$ Hz, H-3'), 3.25 (1H, dd, $J = 17.6, 5.2$ Hz, H-4'a), 3.01 (1H, dd, $J = 17.6, 5.2$ Hz, H-4'b), 1.40 (3H, s, 2'-CH₃), 1.39 (3H, s, 2'-CH₃), 6.10 (1H, brq, $J = 6.8$ Hz, H-3''), 1.91 (3H, brd, $J = 6.8$ Hz, 4''-CH₃), 1.85 (3H, brs, 5''-CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 161.1 (C-2), 112.5 (C-3), 143.8 (C-4), 126.7 (C-5), 114.2 (C-6), 156.3 (C-7), 107.1 (C-8), 153.4 (C-9), 112.1 (C-10), 76.6 (C-2'), 69.3 (C-3'), 23.1 (C-4'), 24.8 (5'-CH₃), 22.8 (6'-CH₃), 166.8 (C-1''), 127.4 (C-2''), 139.2 (C-3''), 20.6 (C-4''), 15.8 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为丝立尼亭。

化合物 **6**: 黄色油状物, $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_7$, 紫外灯 365 nm 下呈蓝色荧光。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) 谱中 δ 6.20 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 7.61 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 7.39 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-5), 6.84 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-4) 为香豆素母核上 3,4,5,6 位 4 个氢的信号, 说明该化合物为 7、8-二取代的香豆素类化合物。5.33 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-2') 和 7.12 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-3') 提示 3'位为酯基取代; 1.67 (s), 1.75 (s) 分别为 5'和 6'位的两个甲基的信号, 1.95 (3H, m), 1.93 (3H, m), 1.82 (3H, m), 1.79 (3H, m, H-5) 分别为 2 个取代基上的甲基信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中, δ 159.8, 113.2, 143.5, 127.1, 113.2, 159.8, 107.6, 151.8, 113.6 为呋喃香豆素的 8 个碳骨架信号, δ 88.8, 68.1 分别为 2'和 3'的碳信号。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.67 (3H, s, H-5'), 1.75 (3H, s, H-6'), 1.95 (3H, m, H-4''), 1.90 (3H, m, H-4'''), 1.82 (3H, m,

H-5''), 1.79 (3H, m, H-5'''), 5.33 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-2'), 7.12 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-3'), 6.20 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 7.61 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 7.39 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-5), 6.84 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 159.8 (C-2), 113.2 (C-3), 143.5 (C-4), 127.1 (C-5), 113.2 (C-6), 159.8 (C-7), 107.6 (C-8), 151.8 (C-8a), 113.6 (C-4a), 88.8 (C-2'), 68.1 (C-3'), 81.1 (C-4'), 24.9 (C-5'), 25.0 (C-6'), 165.7 (C-1''), 128.9 (C-2''), 137.6 (C-3''), 15.7 (C-4''), 20.4 (C-5''), 163.7 (C-1'''), 127.1 (C-2'''), 139.3 (C-3'''), 15.8 (C-4'''), 20.7 (C-5'''). 具体核磁数据见表 1, 通过跟文献报道比对^[12]确定化合物 **6** 为拱当归素。

化合物 **7**: 黄色油状物, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$, 丙酮溶解。

表 1 化合物 **6** 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (400 MHz/100 MHz, CD_3OD)

Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound **6** (400 MHz/100 MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{C}	δ_{H}
2	159.8	—
3	113.2	6.20 (1H, d, $J = 9.6$ Hz)
4	143.5	7.61 (1H, d, $J = 9.6$ Hz)
5	127.1	7.39 (1H, d, $J = 7.4$ Hz)
6	113.2	6.84 (1H, d, $J = 7.4$ Hz)
7	159.8	—
8	107.6	—
8a	151.8	—
4a	113.6	—
2'	88.8	5.33 (1H, d, $J = 7.1$ Hz)
3'	68.1	7.12 (1H, d, $J = 7.1$ Hz)
4'	81.1	—
5'	24.9	1.67 (3H, s)
6'	25.0	1.75 (3H, s)
1''	165.7	—
2''	128.9	—
3''	137.6	—
4''	15.7	1.95 (3H, m)
5''	20.4	1.82 (3H, m)
1'''	163.7	—
2'''	127.1	—
3'''	139.3	—
4'''	15.8	1.90 (3H, m)
5'''	20.7	1.79 (3H, m)

^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.26 (6H, s, H-8', 9'), 1.68 (3H, s, H-10'), 6.27 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-3), 8.15 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-4), 7.78 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-11), 7.24 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-12), 5.59 (1H, dd, $J = 15.6, 6.6$ Hz, H-5'), 5.65 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-6'), 2.76 (2H, d, $J = 6.6$ Hz, H-4'), 5.56 (1H, dd, $J = 15.6, 6.6$ Hz, H-5'), 7.15 (1H, s, H-8), 5.02 (2H, d, $J = 6.8$ Hz, H-1'), 5.55 (1H, m, H-2'), 7.14 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-11); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 16.7 (C-10'), 29.9 (C-8', 9'), 70.8 (C-7'), 120.9 (C-6'), 141.4 (C-5'), 43.0 (C-4'), 141.6 (C-3'), 124.7 (C-2'), 709.8 (C-1'), 106.1 (C-12), 143.2 (C-11), 108.8 (C-10), 153.7 (C-9), 94.7 (C-8), 159.6 (C-7), 115.9 (C-6), 148.8 (C-5), 141.4 (C-4), 113.1 (C-3), 163.1 (C-2)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **7** 为羌活酚。

化合物 **8**: 无色粉末, $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_4$, 易溶于甲醇。

^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 1.26 (3H, s, H-6'), 1.31 (3H, s, H-5'), 6.20 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 7.85 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 6.72 (1H, s, H-8), 7.40 (1H, s, H-5), 3.26 (2H, m, H-3'), 4.77 (1H, dd, $J = 8.5, 9.0$ Hz, H-2'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.2 (C-2), 112.0 (C-3), 144.2 (C-4), 125.3 (C-5), 122.9 (C-6), 161.7 (C-7), 96.1 (C-8), 154.8 (C-9), 112.0 (C-10), 90.5 (C-2'), 28.2 (C-3'), 70.2 (C-4'), 28.3 (C-5'), 23.3 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **8** 为紫花前胡昔元。

化合物 **9**: 无色粉末, $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_5$, 易溶于甲醇。

^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.28 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 7.90 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.48 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.80 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 3.79 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-3'), 5.12 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-4'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.0 (C-2), 112.3 (C-3), 144.8 (C-4), 128.7 (C-5), 114.4 (C-6), 154.3 (C-7), 111.3 (C-8), 156.5 (C-4a), 11.4 (C-8a), 78.8 (C-2'), 71.7 (C-3'), 60.7 (C-4'), 20.1 (C-5'), 25.4 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **9** 为 (+)-*cis*-khellactone。

化合物 **10**: 白色片状晶体 (无水乙醇),

$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_6$, 紫外灯 365 nm 下呈黄色荧光。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.28 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-3), 8.41 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-4), 7.18 (1H, s, H-8), 7.78 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 7.20 (1H, d, $J = 2.3$ Hz,

H-3'), 4.79 (1H, dd, $J = 10.0, 2.2$ Hz, H-1''a), 4.39 (1H, dd, $J = 10.0, 8.8$ Hz, H-1b), 3.83 (1H, dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, H-2''), 1.25 (3H, s, H-4''), 1.30 (3H, s, H-5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 162.3 (C-2), 112.9 (C-3), 141.7 (C-4), 153.9 (C-5), 115.3 (C-6), 159.8 (C-7), 94.6 (C-8), 150.7 (C-9), 108.3 (C-10), 146.7 (C-2'), 106.2 (C-3'), 75.8 (C-1''), 78.1 (C-2''), 72.7 (C-3''), 27.2 (C-4''), 24.8 (C-5''). 以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **10** 为水合氧化前胡素。

4 抗氧化活性测试

抗氧化类化合物就是任何以低浓度存在就能有效抑制自由基的氧化反应的化合物, 其作用机制是直接作用在自由基, 或是间接消耗自由基, 防止发生进一步反应, DPPH 法和 ABTS 法是自由基清除模型最常用的方法。

4.1 DPPH 实验

DPPH 实验方法参照文献方法^[17]进行。准确称取 DPPH 试剂 6.18 mg, 用色谱甲醇溶解, 定容至 31.3 mL, 摇匀得浓度为 0.5 mmol/L 的 DPPH 储备液, 置于冰箱中冷藏备用。选用维生素 C 为阳性药, 准确称取样品和维生素 C, 用适量甲醇溶解, 每个样品等比稀释成 5 个浓度(0.8~0.003 125 mmol/L)。取 100 μL DPPH 储备液加到 96 孔板中, 随后每个孔分别加入 100 μL 一系列样品溶液和阳性药溶液, 置于暗处反应 25 min。反应完全后, 在 517 nm 波长下用酶标仪检测吸光度 (A) 值。每个浓度设 3 个复孔, DPPH 的清除能力用半数抑制浓度 (IC_{50}) 来表示。

4.2 ABTS 实验

ABTS 实验操作参照试剂盒的说明书进行, 实验结果以 Trolox 等效抗氧化能力表示, 即 Trolox 的总抗氧化能力为 1, 相同浓度情况下, 其他物质的抗氧化能力用其抗氧化能力和 Trolox 相比的倍数表示。

4.3 结果分析

实验结果(表 2)表明, 化合物 **1** 和 **7** 具有较强的抗氧化能力, 分析构效关系发现, 化合物 **1** 的抗氧化活性可能与香豆素分子结构中所含的酚羟基有关, 而此基团是香豆素分子抗氧化活性的关键所在^[18], 可提供质子, 阻断自由基反应, 提高化合物结构稳定性, 从而有较强的抗氧化活性, 例如与化合物 **1** 为同分异构体的花椒毒酚, 其在脂质过氧化实验和溶血实验中均显示出抗氧化活性^[19]; 化合物 **7** 的呋喃环上的双键以及 2 个异戊二烯双键可以

表 2 化合物 1~10 的抗氧化活性

Table 2 Anti-oxidant activities of compounds 1—10

化合物	DPPH $\text{IC}_{50}/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	ABTS (倍数)
1	0.039	1.051
2	552.735	0.104
3	415.083	0.134
4	32.903	0.217
5	308.885	0.585
6	32.018	0.741
7	0.066	1.232
8	0.213	0.251
9	4.529	0.057
10	0.514	0.332
维生素 C	0.028	—

淬灭单线态氧、抑制活性氧的生成, 从而达到清除自由基的目的, 本实验通过研究羌活中香豆素类化学成分的抗氧化活性验证了相关文献报道的这一观点^[20]。

参考文献

- [1] 张明发, 沈雅琴, 来自平, 等. 羌活的镇痛抗炎抗血栓形成作用研究 [J]. 中医药杂志, 1996(6): 51-53.
- [2] 肖永庆, 孙友富, 刘晓宏. 羌活化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1994, 19(7): 421-422.
- [3] 李丽梅, 梁宝德, 俞绍文, 等. 羌活的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(5): 351-354.
- [4] 王曙, 王天志. 宽叶羌活化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(5): 295-296.
- [5] 肖培根. 新编中药志 (第一卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [6] 张惠源, 王克勤. 中国常用中药材 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [7] 肖永庆, 马场色办江, 谷口雅颜, 等. 中药羌活中的香豆素 [J]. 药学报, 1995, 30(4): 274-279.
- [8] 杨秀伟, 严仲铠, 顾哲明, 等. 羌活化学成分的研究 [J]. 中草药, 1993, 24(10): 507-511.
- [9] 饶高雄, 钮芳娣, 孙汉董. 中甸前胡的化学成分研究 [J]. 云南植物研究, 1990, 12(4): 434-438.
- [10] 常新亮, 马云保, 张雪梅, 等. 川芎化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15): 1533-1536.
- [11] 张梅, 周忠玉, 任慧, 等. 紫茎泽兰中的酚类化学成分 [J]. 热带亚热带植物学报, 2013, 21(1): 63-68.
- [12] Steck W, Mazure K M. Identification of natural coumarins by NMR spectroscopy [J]. Lloydia, 1972, 35(4): 418-439.

- [13] 肖永庆, 谷口雅颜, 刘晓宏, 等. 中药羌活中的香豆素 [J]. 药学学报, 1996, 30(4): 274-279.
- [14] Liu A L, Liu B, Qin H L, *et al.* Anti-influenza virus activities of flavonoids from the medicinal plant *Elsholtzia rugulosa* [J]. *Planta Med*, 2008, 74(8): 847-851.
- [15] Takata M, Okuyama T, Shibata S. Studies on coumarins of a Chinese drug “qian-hu” VIII. Structures of new coumarin-glycosides of “bai-hua qian-hu” [J]. *Planta Med*, 1988, 54(4): 323-327.
- [16] 张涵庆, 袁昌齐, 陈桂英, 等. 杭白芷根化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 1980, 15(9): 2-4.
- [17] 蒋晓文, 白俊鹏, 田 星, 等. 牛蒡根中黄酮苷类化学成分及其抗氧化活性构效关系的研究 [J]. 中草药, 2016, 47(5): 726-731.
- [18] Ng T B, Liu F, Wang Z T. Antioxidative activity of natural products from plants [J]. *Life Sci*, 2000, 66(8): 709-723.
- [19] 李颖仪, 蔡先东. 香豆素的药理研究进展 [J]. 中药材, 2004, 27(3): 218-222.
- [20] Upritchard J E, Schuurman C R W C, Wiersma A, *et al.* Spread supplemented with moderate doses of vitamin E and carotenoids reduces lipid peroxidation in healthy, nonsmoking adults [J]. *Am J Clin Nutr*, 2003, 78(5): 985-992.