

白花败酱草抗氧化成分研究

王嘉琪¹, 刘洋¹, 杨永芬², 刘洋成¹, 陈长兰¹, 陈刚², 项峥¹, 阎新佳³, 刘伟^{1*}

1. 辽宁大学药学院, 辽宁 沈阳 110036

2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

3. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

摘要: 目的 研究白花败酱草 *Patrinia villosa* 的化学成分及其抗氧化活性。方法 利用硅胶柱色谱、ODS 柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱法进行分离, 应用半制备高效液相色谱进行进一步的分离纯化, 通过核磁共振技术等波谱数据鉴定化合物结构。采用 DPPH 法和 ABTS 法评价各化合物的体外抗氧化活性。结果 从白花败酱草 70%乙醇提取物中分离得到 10 个化合物, 分别为绿原酸丁酯 (1)、3,4-*O*-双咖啡酰奎尼酸甲酯 (2)、木犀草素-7-*O*-芸香苷 (3)、1 β -*O*- β -D-glucopyranosyl-15-*O*-(*p*-hydroxyphenylacetate)-5 α ,6 β -eudesma-3,11(13)-dien-12,6 α -olide (4)、3,4-*O*-双咖啡酰奎尼酸乙酯 (5)、4,5-*O*-双咖啡酰奎尼酸甲酯 (6)、4,5-*O*-双咖啡酰奎尼酸正丁酯 (7)、木犀草素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷甲酯 (8)、木犀草素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷乙酯 (9)、芹菜素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷甲酯 (10)。化合物 3、8、9 的清除 DPPH 自由基 IC₅₀ 分别为 (23.95 $\pm$ 0.71)、(73.09 $\pm$ 0.33)、(25.06 $\pm$ 0.65) μ mol/L, 其清除 ABTS 自由基 IC₅₀ 分别为 (7.13 $\pm$ 0.07)、(11.48 $\pm$ 0.21)、(5.15 $\pm$ 0.08) μ mol/L。结论 除化合物 3、8 外, 其余化合物均为首次从白花败酱草中分离得到。化合物 3、8、9 具有明确的体外抗氧化活性。

关键词: 白花败酱草; 绿原酸丁酯; 3,4-*O*-双咖啡酰奎尼酸甲酯; 木犀草素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷乙酯; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)21-5206-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.011

Anti-oxidant chemical constituents from *Patrinia villosa*

WANG Jia-qi¹, LIU Yang¹, YANG Yong-fen², LIU Yang-cheng¹, CHEN Chang-lan¹, CHEN Gang², XIANG Zheng¹, YAN Xin-jia³, LIU Wei¹

1. School of Pharmaceutical Science, Liaoning University, Shenyang 110036, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

3. College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

Abstract: Objective To study the antioxidant chemical constituents and antioxidant activity of *Patrinia villosa*. **Methods** The 70% ethanol-water extract of the herb was separated by silica gel column chromatography, ODS column chromatography and sephadex column chromatography. Then, the compound were further purified and extracted by semi-preparative HPLC. Their structures were elucidated by physiochemical property and spectral analysis. DPPH and ABTS methods were used to determine the antioxidant bioactivities of the isolated compounds. **Results** A total of ten compounds were isolated and synthesized, including chlorogenic acid butyl ester (1), 3,4-di-*O*-caffeoyl quinic acid methyl ester (2), luteolin-7-*O*-rutinoside (3), 1 β -*O*- β -D-glucopyranosyl-15-*O*-(*p*-hydroxyphenylacetate)-5 α ,6 β -eudesma-3,11(13)-dien-12,6 α -olide (4), 3,4-di-*O*-caffeoyl quinic acid ethyl ester (5), 4,5-di-*O*-caffeoyl quinic acid methyl ester (6), 4,5-di-*O*-caffeoyl quinic acid *n*-butyl ester (7), luteolin-7-*O*- β -D-glucuronide methyl ester (8), luteolin-7-*O*- β -D-glucuronide ethyl ester (9), and apigenin-7-*O*- β -D-glucuronide methyl ester (10). The DPPH radical scavenging IC₅₀ of compounds 3, 8, and 9 were (23.95 $\pm$ 0.71), (73.09 $\pm$ 0.33), and (25.06 $\pm$ 0.65) μ mol/L, respectively. The ABTS radical scavenging IC₅₀ was (7.13 $\pm$ 0.07), (11.48 $\pm$ 0.21), (5.15 $\pm$ 0.08) mol/L, respectively. **Conclusion** Eight compounds except compounds 3 and 8 are obtained from this species for the first time. Compounds 3, 8, and 9 had significant antioxidant activity.

收稿日期: 2019-04-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81303211); 中国博士后科学基金项目 (2013M540301); 黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划 (UNPYSCT-2017201)

作者简介: 王嘉琪, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (024)62202469

*通信作者 刘伟, 女, 高级工程师, 研究方向为中药及天然药物药效物质基础。Tel: (024)62202469 E-mail: liuweiolina@163.com

Key words: *Patrinia villosa* (Thunb) Juss.; chlorogenic acid butyl ester; 3,4-di-*O*-caffeoyl quinic acid methyl ester; luteolin-7-*O*- β -*D*-glucuronide ethyl ester; anti-oxidant activity

白花败酱草 *Patrinia villosa* (Thunb) Juss. 始载于《神农本草经》，又名苦芥公、苦斋、败酱草、苦益菜等，是败酱科 (Valerianaceae) 败酱属 *Patrinia* Juss 多年生草本植物。其广泛分布于我国华东、华中、华南及西南各地^[1]。白花败酱草味苦、性寒、无毒，具有散瘀消肿，活血排脓，治肠痈有脓、血气心腹痛及敷疮疔疥癣等功效，临床上主要用于治疗阑尾炎、痢疾、肝炎、扁桃体炎、痈肿疮毒等疾病^[2]。现代药理学研究表明，白花败酱草具有抗炎消肿、抗肿瘤、抗菌及镇静等多种药理活性^[3]。

近年来，本课题组对白花败酱草的化学成分进行系统分析，得到一系列结构信息，其中木脂素类、黄酮类、皂苷类以及萜类成分为白花败酱草的主要成分^[4-10]。有关白花败酱草的活性成分研究较少，其中抗氧化活性成分研究报道几乎空白，而人体的多种疾病如癌症、心脑血管系统疾病都与体内氧化代谢产生的自由基积累过量有关^[11-12]。因此，为了充分开发白花败酱草资源以及有关活性成分的发现，本课题组在前期工作的基础上，继续对白花败酱草的化学成分进行研究，共分离得到 10 个化合物，分别鉴定为绿原酸丁酯 (chlorogenic acid butyl ester, **1**)、3,4-*O*-双咖啡酰奎尼酸甲酯 (3,4-di-*O*-caffeoyl quinic acid methyl ester, **2**)、木犀草素-7-*O*-芸香苷 (luteolin-7-*O*-rutinoside, **3**)、1 β -*O*- β -*D*-glucopyranosyl-15-*O*-(*p*-hydroxyphenylacetate)-5 α ,6 β -eudesma-3,11(13)-dien-12,6 α -olide (**4**)、3,4-*O*-双咖啡酰奎尼酸乙酯 (3,4-di-*O*-caffeoyl quinic acid ethyl ester, **5**)、4,5-*O*-双咖啡酰奎尼酸甲酯 (4,5-di-*O*-caffeoyl quinic acid methyl ester, **6**)、4,5-*O*-双咖啡酰奎尼酸正丁酯 (4,5-di-*O*-caffeoyl quinic acid *n*-butyl ester, **7**)、木犀草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸苷甲酯 (luteolin-7-*O*- β -*D*-glucuronide methyl ester, **8**)、木犀草素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸苷乙酯 (luteolin-7-*O*- β -*D*-glucuronide ethyl ester, **9**)、芹菜素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸苷甲酯 (apigenin-7-*O*- β -*D*-glucuronide methyl ester, **10**)。除化合物 **3** 及 **8**，其余均为从白花败酱草植物中首次分离得到。进一步对所得各化合物体外抗氧化活性进行评价，化合物 **3**、**8**、**9** 具有较好的 DPPH 自由基及 ABTS 自由基清除能力，是白花败酱草中抗氧化活性成分。

1 仪器与材料

Bruker ARX 400 MHz 核磁共振波谱仪 (Bruker 公司)，半制备型高效液相色谱仪 (Agilent 公司，UV 检测器)；YMC ODS-A 制备色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m, YMC 公司)；酶标仪 (Thermo scientific 公司)；柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目) 购自中国青岛海洋化工厂；葡聚糖凝胶 LH-20 购自北京绿百草科技发展有限公司；ODS 柱色谱填料购自美国 Welch 公司；96 孔板购于 Nest Biotech 公司；DPPH 及 *L*-抗坏血酸购于 Sigma-Aldrich 公司；ABTS 购于百灵威化学试剂公司；磷酸盐缓冲液 (PBS) 购于 Solarbio 公司。实验所需有机溶剂均购自天津科密欧化学试剂有限公司。

白花败酱草购自河北祁新中药颗粒饮片有限公司，经过哈尔滨商业大学吴健博士鉴定为白花败酱草 *Patrinia villosa* (Thunb.) Juss. 的干燥全草。

2 方法

2.1 提取与分离

白花败酱草干燥全草 15 kg，粉碎后采用 6 倍体积的 70%乙醇回流提取 3 次，每次 2 h。提取液经过减压干燥浓缩得到浸膏约 1.4 kg。用适量的蒸馏水将浸膏分散，分散后依次采用等体积石油醚、醋酸乙酯、正丁醇依次萃取 3 次，回收各萃取溶剂，正丁醇层 (约 350 g) 经过 C₁₈ 色谱柱分离，依次用 20%、40%、60%、80%、100% 甲醇-水梯度洗脱。进一步对 40% 甲醇 (39.5 g) 和 60% 甲醇 (38.7 g) 洗脱物采用硅胶柱色谱进行分离，以二氯甲烷-甲醇 (100:0 $\rightarrow$ 0:100) 为流动相。合并后共得到 12 个主要组分 (Fr. 1~12)，Fr. 4 经过反复葡聚糖凝胶 LH-20 柱色谱分离，最终采用制备型高效液相色谱纯化得化合物 **1** (23.3 mg)、**2** (51.0 mg)、**3** (13.9 mg)、**4** (52.7 mg)。Fr. 6 经过反复葡聚糖凝胶 LH-20 柱色谱分离，最终采用制备型高效液相色谱纯化得化合物 **5** (9.4 mg)、**6** (16.0 mg)、**7** (14.8 mg)、**8** (12.4 mg)、**9** (7.2 mg)、**10** (11.6 mg)。

2.2 抗氧化活性实验

分离的单体化合物的抗氧化活性采用 DPPH 自由基清除实验和 ABTS 自由基清除实验测定。

2.2.1 DPPH 法 将 0.2 mmol/L 浓度的 100 μ L DPPH 乙醇溶液加入 96 微孔板，然后加入 100 μ L *L*-

抗坏血酸和不同质量浓度(100、50、25、10、5、1 $\mu\text{g/mL}$)的待测化合物溶液,并在室温下避光放置 30 min。在波长 517 nm 处,通过酶标仪测量每个孔的吸光度(A)值,并计算其 DPPH 清除活性。

2.2.2 ABTS 法 将 100 μL 过硫酸钾溶液和 ABTS 溶液(1:1,在室温下暗处放置 12~16 h)的混合溶液加入到 96 微孔板中,然后加入 100 μL L -抗坏血酸和不同质量浓度(100、50、25、10、5、1 $\mu\text{g/mL}$)的待测化合物溶液,室温下避光放置 20 min 后,于波长 734 nm 处检测 A 值,计算其 ABTS 清除活性。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末(甲醇)。紫外灯(254 nm)下有暗斑,5%硫酸-乙醇显色。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.38 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.01 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.95 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.09 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 5.01 (1H, m, H-5), 3.97 (1H, m, H-3), 3.89 (2H, m, H-8), 3.57 (1H, brs, H-4), 2.07~2.14 (1H, m, H-2a), 2.07~2.14 (1H, m, H-6a), 1.94 (1H, dd, $J = 13.6, 3.2$ Hz, H-6b), 1.75 (1H, dd, $J = 12.4, 9.6$ Hz, H-2b), 1.48 (2H, m, H-9), 1.24 (2H, m, H-10), 0.79 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 73.1 (C-1), 37.2 (C-2), 66.9 (C-3), 69.4 (C-4), 71.0 (C-5), 35.1 (C-6), 173.1 (C-7), 64.0 (C-8), 30.0 (C-9), 18.5 (C-10), 13.5 (C-11), 125.4 (C-1'), 114.5 (C-2'), 145.1 (C-3'), 145.6 (C-4'), 115.8 (C-5'), 121.2 (C-6'), 148.4 (C-7'), 113.8 (C-8'), 165.4 (C-9')。经鉴定化合物 **1** 为绿原酸丁酯^[13]。

化合物 **2**: 淡黄色无定形粉末(甲醇)。紫外(365 nm)下显蓝色荧光, FeCl_3 反应呈墨绿色。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.51 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7'), 7.42 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7''), 7.04 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-2'), 7.04 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-2''), 6.98 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.98 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6''), 6.78 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.76 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5''), 6.26 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8'), 6.13 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''), 5.27 (1H, m, H-3), 4.97 (1H, dd, $J = 6.4, 2.8$ Hz, H-4), 4.15 (1H, m, H-5), 3.60 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.24 (1H, d, $J = 13.8$ Hz, H-2a), 2.24 (1H, d, $J = 13.8$ Hz, H-6a), 2.01 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-6b), 1.89 (1H, dd, $J = 13.8, 8.8$ Hz, H-2b); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 73.2 (C-1), 7.7

(C-2), 67.8 (C-3), 72.1 (C-4), 65.4 (C-5), 36.2 (C-6), 173.4 (C-7), 125.5 (C-1'), 114.9 (C-2'), 145.8 (C-3'), 148.7 (C-4'), 115.9 (C-5'), 121.5 (C-6'), 145.6 (C-7'), 113.9 (C-8'), 165.9 (C-9'), 125.3 (C-1''), 114.8 (C-2''), 145.7 (C-3''), 148.5 (C-4''), 115.9 (C-5''), 121.4 (C-6''), 145.6 (C-7''), 113.3 (C-8''), 165.3 (C-9''), 52.1 ($-\text{OCH}_3$)。经鉴定化合物 **2** 为 3,4- O -双咖啡酰奎尼酸甲酯^[14]。

化合物 **3**: 黄色无定形粉末(甲醇)。 FeCl_3 反应阳性, 盐酸镁粉反应呈阳性, Molish 反应阳性, 提示为黄酮苷类化合物。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.44 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, H-6'), 7.41 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.74 (1H, s, H-3), 6.74 (1H, s, H-8), 6.45 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.07 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 4.55 (1H, s, H-1'''), 1.04 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-6'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 164.5 (C-2), 103.1 (C-3), 181.8 (C-4), 161.2 (C-5), 100.5 (C-6), 162.8 (C-7), 94.7 (C-8), 156.8 (C-9), 105.3 (C-10), 121.4 (C-1'), 113.5 (C-2'), 145.7 (C-3'), 149.5 (C-4'), 116.0 (C-5'), 119.2 (C-6'), 99.9 (C-1''), 73.0 (C-2''), 76.2 (C-3''), 69.5 (C-4''), 75.5 (C-5''), 66.0 (C-6''), 99.5 (C-1'''), 70.3 (C-2'''), 70.7 (C-3'''), 72.0 (C-4'''), 68.3 (C-5'''), 17.7 (C-6''')。经鉴定化合物 **3** 为木犀草素-7- O -芸香苷^[15]。

化合物 **4**: 黄色油状物(甲醇)。紫外灯(254 nm)下有暗斑,5%硫酸-乙醇显色。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2''), 6.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6''), 6.61 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3''), 6.61 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5''), 5.91 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 5.70 (1H, brs, H-3), 5.47 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 4.50 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-15a), 4.41 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-15b), 4.17 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.72 (1H, dd, $J = 6.8, 9.2$ Hz, H-1), 3.62 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-6), 3.47 (2H, s, H-7''), 3.45 (1H, m, H-6'a), 3.42 (1H, m, H-5'), 3.06~3.18 (1H, m, H-4'), 3.06~3.18 (1H, m, H-6'b), 3.01 (1H, m, H-3'), 2.91 (1H, m, H-2'), 2.50 (1H, m, H-2a), 2.42~2.46 (1H, m, H-5), 2.42~2.46 (1H, m, H-7), 1.92 (1H, d, $J = 14.4$ Hz, H-2b), 1.97~1.98 (1H, m, H-8a), 1.97~1.98 (1H, m, H-9a), 1.26~1.43 (1H, m, H-8b), 1.26~1.43 (1H, m, H-9b), 0.71 (3H, s, H-14); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 78.2 (C-1), 29.0 (C-2), 127.1

(C-3), 131.3 (C-4), 48.6 (C-5), 80.0 (C-6), 49.6 (C-7), 20.5 (C-8), 33.9 (C-9), 39.6 (C-10), 138.9 (C-11), 169.9 (C-12), 116.6 (C-13), 11.7 (C-14), 66.7 (C-15), 99.9 (C-1'), 73.5 (C-2'), 76.9 (C-3'), 70.3 (C-4'), 76.8 (C-5'), 61.3 (C-6'), 124.4 (C-1''), 130.3 (C-2''), 115.1 (C-3''), 156.1 (C-4''), 115.1 (C-5'')。经鉴定化合物 **4** 为 1β -*O*- β -*D*-glucopyranosyl-15-*O*-(*p*-hydroxyphenylacetate)-5 α ,6 β *H*-eudesma-3,11(13)-dien-12,6 α -olide^[16]。

化合物 **5**: 淡黄色无定形粉末(甲醇)。紫外 365 nm 下有蓝色荧光, FeCl₃ 反应呈墨绿色。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.51 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7'), 7.42 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7''), 7.04 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.04 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.99 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6'), 6.96 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6''), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5''), 6.26 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8'), 6.13 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8''), 5.26 (1H, m, H-3), 4.96 (1H, dd, *J* = 6.4, 2.8 Hz, H-4), 4.12 (1H, m, H-5), 4.00~4.08 (2H, m, -OCH₂CH₃), 2.25 (1H, m, H-2a), 2.25 (1H, m, H-6a), 1.97 (1H, d, *J* = 13.2, Hz, H-6b), 1.87 (1H, dd, *J* = 13.2, 8.8 Hz, H-2b), 1.14 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, -OCH₂CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 73.1 (C-1), 37.6 (C-2), 67.8 (C-3), 72.1 (C-4), 65.5 (C-5), 38.9 (C-6), 172.8 (C-7), 125.4 (C-1'), 114.9 (C-2'), 145.6 (C-3'), 148.5 (C-4'), 115.8 (C-5'), 121.5 (C-6'), 145.7 (C-7'), 113.8 (C-8'), 165.9 (C-9'), 125.3 (C-1''), 114.7 (C-2''), 145.6 (C-3''), 148.6 (C-4''), 115.8 (C-5''), 121.4 (C-6''), 145.7 (C-7''), 113.3 (C-8''), 165.2 (C-9''), 13.8 (-OCH₂CH₃), 60.5 (-OCH₂CH₃)。经鉴定化合物 **5** 为 3,4-*O*-双咖啡酰奎尼酸乙酯^[17]。

化合物 **6**: 淡黄色无定形粉末(甲醇)。紫外 365 nm 下有蓝色荧光, FeCl₃ 反应呈墨绿色。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.50 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7'), 7.43 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7''), 7.05 (1H, s, H-2'), 7.05 (1H, s, H-2''), 7.01 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6'), 7.01 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6''), 6.78 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.78 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5''), 6.27 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8'), 6.14 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8''), 5.17 (1H, m, H-5), 5.08 (1H, m, H-4), 3.86 (1H, m, H-3), 3.59 (3H, s, -OCH₃), 2.19~2.21 (1H, m, H-2a), 2.19~2.21 (1H, m, H-6a), 1.99~2.02 (1H,

m, H-2b), 1.99~2.02 (1H, m, H-6b); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 72.4 (C-1), 36.0 (C-2), 66.5 (C-3), 70.9 (C-4), 70.0 (C-5), 34.5 (C-6), 173.7 (C-7), 125.6 (C-1'), 114.8 (C-2'), 145.7 (C-3'), 148.6 (C-4'), 115.9 (C-5'), 121.4 (C-6'), 145.4 (C-7'), 114.5 (C-8'), 166.0 (C-9'), 125.3 (C-1''), 114.7 (C-2''), 145.6 (C-3''), 148.3 (C-4''), 115.8 (C-5''), 121.2 (C-6''), 145.0 (C-7''), 113.6 (C-8''), 165.3 (C-9''), 51.9 (-OCH₃)。经鉴定化合物 **6** 为 4,5-*O*-双咖啡酰奎尼酸甲酯^[18]。

化合物 **7**: 棕色无定形粉末(甲醇)。紫外 365 nm 下有蓝色荧光, FeCl₃ 反应呈墨绿色。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.48 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7'), 7.42 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7''), 7.03 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.01 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2''), 6.98 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.98 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6''), 6.78 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.76 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5''), 6.26 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8'), 6.12 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8''), 5.17 (1H, m, H-5), 5.07 (1H, m, H-4), 3.92~4.05 (2H, m, H-8), 3.91 (1H, m, H-3), 2.19~2.21 (1H, m, H-2a), 2.19~2.21 (1H, m, H-6a), 1.95~2.00 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.6 Hz, H-2b), 1.95~2.00 (1H, m, H-6b), 1.45~1.54 (2H, m, H-9), 1.19~1.20 (2H, m, H-10), 0.79 (3H, t, *J* = 7.2 Hz, H-11); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 72.4 (C-1), 36.0 (C-2), 66.5 (C-3), 70.9 (C-4), 70.0 (C-5), 34.5 (C-6), 173.7 (C-7), 66.6 (C-8), 30.0 (C-9), 18.5 (C-10), 13.5 (C-11), 125.6 (C-1'), 114.8 (C-2'), 145.7 (C-3'), 148.6 (C-4'), 115.9 (C-5'), 121.4 (C-6'), 145.4 (C-7'), 114.5 (C-8'), 166.0 (C-9'), 125.3 (C-1''), 114.7 (C-2''), 145.6 (C-3''), 148.3 (C-4''), 115.8 (C-5''), 121.2 (C-6''), 145.0 (C-7''), 113.6 (C-8''), 165.3 (C-9'')。经鉴定化合物 **7** 为 4,5-*O*-双咖啡酰奎尼酸正丁酯^[14]。

化合物 **8**: 淡黄色粉末(甲醇)。FeCl₃ 反应阳性, 盐酸镁粉反应呈阳性, Molish 反应阳性, 提示该化合物为黄酮苷类化合物。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.45 (1H, brs, H-6'), 7.44 (1H, brs, H-2'), 6.92 (1H, brs, H-5'), 6.82 (1H, brs, H-8), 6.75 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, brs, H-6), 5.34 (1H, d, *J* = 6.4 Hz, H-1''), 3.70 (3H, s, H-7''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.5 (C-2), 103.2 (C-3), 181.6 (C-4), 161.2 (C-5), 99.3 (C-6), 162.4 (C-7), 94.5 (C-8), 156.9 (C-9), 105.5 (C-10), 121.3 (C-1'), 113.6 (C-2'), 145.8

(C-3'), 149.9 (C-4'), 116.0 (C-5'), 119.1 (C-6'), 99.1 (C-1''), 72.7 (C-2''), 75.4 (C-3''), 71.3 (C-4''), 75.1 (C-5''), 169.1 (C-6''), 51.9 (C-7'')。经鉴定化合物 **8** 为木犀草素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷甲酯^[18]。

化合物 **9**: 黄色粉末 (甲醇)。FeCl₃ 反应阳性, 盐酸镁粉反应呈阳性, Molish 反应阳性, 提示该化合物为黄酮苷类化合物。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.45 (1H, brs, H-6'), 7.44 (1H, brs, H-2'), 6.92 (1H, brs, H-5'), 6.82 (1H, brs, H-8), 6.75 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, brs, H-6), 5.32 (1H, d, *J* = 6.0 Hz, H-1''), 4.14 (2H, overlapped, H-7''), 1.20 (3H, t, *J* = 6.0 Hz, H-8''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.5 (C-2), 103.2 (C-3), 181.6 (C-4), 161.2 (C-5), 99.3 (C-6), 162.4 (C-7), 94.5 (C-8), 156.9 (C-9), 105.5 (C-10), 121.3 (C-1'), 113.6 (C-2'), 145.8 (C-3'), 149.9 (C-4'), 116.0 (C-5'), 119.1 (C-6'), 99.1 (C-1''), 72.7 (C-2''), 75.4 (C-3''), 71.3 (C-4''), 75.1 (C-5''), 169.1 (C-6''), 60.7 (C-7''), 13.9 (C-8'')。经鉴定化合物 **9** 为木犀草素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷乙酯^[19]。

化合物 **10**: 淡黄色粉末 (甲醇)。FeCl₃ 反应阳性, 盐酸镁粉反应呈阳性, Molish 反应阳性, 提示该化合物为黄酮苷类化合物。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.95 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2'), 7.95 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6'), 6.94 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-3'), 6.94 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.87 (2H, brs, H-3), 6.87 (2H, brs, H-8), 6.47 (1H, d, *J* = 1.2 Hz, H-6), 5.32 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1''), 3.67 (3H, s, H-7''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 164.3 (C-2), 103.1 (C-3), 181.6 (C-4), 156.9 (C-5), 99.3 (C-6), 162.4 (C-7), 94.6 (C-8), 161.2 (C-9), 105.5 (C-10), 120.9 (C-1'), 128.6 (C-2', 6'), 116.0 (C-3', 5'), 161.4 (C-4'), 99.0 (C-1''), 72.7 (C-2''), 75.4 (C-3''), 71.3 (C-4''), 75.1 (C-5''), 169.2 (C-6''), 52.0 (C-7'')。经鉴定化合物 **10** 为芹菜素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸苷甲酯^[20]。

3.2 抗氧化活性实验结果

化合物 **3**、**8** 和 **9** 表现出显著的抗氧化活性, 其中化合物 **3**、**9** 的 DPPH 自由基清除率 IC₅₀ 值与 *L*-抗坏血酸的作用相当 (表 1), 化合物 **8** 的 ABTS 清除活性 IC₅₀ 值与 *L*-抗坏血酸基本一致。

4 讨论

本实验从白花败酱草中共分离得到 10 个化合

表 1 黄酮类化合物抗氧化活性

Table 1 Antioxidant activities of flavonoids compounds

化合物	IC ₅₀ /(μ mol·L ⁻¹)	
	DPPH	ABTS
3	23.95 $\pm$ 0.71	7.13 $\pm$ 0.07
8	73.09 $\pm$ 0.33	11.48 $\pm$ 0.21
9	25.06 $\pm$ 0.65	5.15 $\pm$ 0.08
<i>L</i> -抗坏血酸	25.11 $\pm$ 0.18	12.50 $\pm$ 0.02

物, 除了化合物 **3**、**8** 以外, 均为首次从白花败酱草中分离得到。其中化合物 **3**、**8** 和 **9** 具有显著的体外抗氧化活性。该结果为白花败酱草的相关研究提供了较为坚实的基础, 同时也为其药用开发提供依据。

参考文献

- [1] 彭金咏, 范国荣, 吴玉田. 白花败酱草化学成分研究 [J]. 中药材, 2005, 28(10): 24-25.
- [2] 彭金咏, 范国荣, 吴玉田. 白花败酱草黄酮类成分的高速逆流色谱快速制备 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(13): 977-979.
- [3] 崔文燕, 刘素香, 宋晓凯, 等. 黄花败酱草和白花败酱草的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(3): 482-488.
- [4] Xiang Z, Chen N, Xu Y, *et al.* New flavonoid from *Patrinia villosa* [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(7): 1219-1222.
- [5] 阎新佳, 郑威, 温静, 等. 白花败酱草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 38(2): 185-187.
- [6] 阎新佳, 郑威, 温静, 等. 白花败酱草的木脂素类化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(13): 1126-1131.
- [7] Xiang Z, Zhao S S, Zhao Y, *et al.* Chemical constituents from *Patrinia villosa* (Thunb.) Juss. [J]. *Lat Am J Pharm*, 2017, 36(12): 2425-2430.
- [8] 项峥, 阎新佳, 刘伟, 等. 白花败酱草的化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(3): 185-187.
- [9] Yan X J, Liu W, Zhao Y, *et al.* A new biphenyl neolignan from leaves of *Patrinia villosa* (Thunb.) Juss. [J]. *Pharmacogn Mag*, 2106, 12(45): 1-3.
- [10] Yang Y F, Ma H M, Chen G, *et al.* A new sesquiterpene lactone glycoside and a new quinic acid methyl ester from *Patrinia villosa* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2016, 18(10): 945-951.
- [11] 崔剑, 李兆陇, 洪啸吟. 自由基生物抗氧化与疾病 [J]. 清华大学学报: 自然科学版, 2000, 40(6): 9-12.
- [12] 成喜雨, 崔馨, 刘春朝, 等. 中草药抗氧化活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(3): 514-518.

- [13] 田景奎, 邹忠梅, 徐丽珍, 等. 黄连花化学成分研究 [J]. 中草药, 2001, 32(11): 10-12.
- [14] 汤 丹, 李会军, 钱正明, 等. 黄褐毛忍冬花蕾咖啡酰奎宁酸类成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(20): 1537-1539.
- [15] 周道年, 阮金兰, 蔡亚玲. 复叶耳蕨地上部分黄酮类化合物 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(16): 1218-1220.
- [16] Han Y F, Li X, Gao K, *et al*. Two new eudesmanoides from *Sonchus transcaspicus* [J]. *Chin Chem Lett*, 2005, 16(4): 491-493..
- [17] 郑重飞. 金银花和鸡桑的化学成分与生物活性研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2010.
- [18] Woo E R, Piao M S. Antioxidative constituents from *Lycopus lucidus* [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27(2): 173-176.
- [19] 杨念云, 段金廛, 李 萍, 等. 连钱草中的黄酮类化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(3): 210-211.
- [20] Feng X Z, Xu S X, Dong M, *et al*. Two Novel Flavonoids from *Ixeris sonchifolia* [J]. *J Pharm Sci*, 2000, 9(3): 134-136.