

瑞香狼毒花化学成分及其抗氧化活性研究

周蕙祯¹, 汤良杰¹, 龚宇¹, 罗伟¹, 李丽梅^{2*}, 陈胡兰^{1*}

1. 成都中医药大学药学院, 中药材标准化教育部重点实验室, 四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137

2. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

摘要: 目的 研究瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* 花中黄酮和木脂素类化学成分及其抗氧化活性, 分析构效关系。方法 利用大孔吸附树脂、正反相硅胶、Sephadex LH-20 等色谱分离材料, 通过柱色谱和高效液相色谱等分离方法进行分离纯化, 运用核磁共振 (NMR)、质谱 (MS) 等波谱技术鉴定化合物结构, 并采用 FRAP 法、DPPH 法和 ABTS 法对分离得到的化合物进行体外抗氧化活性测试。结果 从瑞香狼毒花甲醇提取物中分离鉴定了 12 个化合物, 分别鉴定为艾黄素 (1)、槲皮素 (2)、isoscuteallarein-8-O- β -D-glucuronopyranoside (3)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷 (4)、紫云英苷 (5)、hypolaetin-8-O- β -D-glucuronopyranoside (6)、kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O- α -L-xylopyranoside (7)、*rel*-(3R,3'S,4R,4'S)-3,3',4,4'-tetrahydro-6,6'-dimethoxy [3,3'-bi-2H-benzopyran]-4,4'-diol (8)、马台树脂醇 (9)、乌拉尔醇 (10)、环黄芪醇 (11)、松脂醇 (12)。抗氧化活性实验表明, 黄酮和木脂素类化合物均显示了较强的抗氧化活性。结论 化合物 1、3、5~7 和 10 为首次从该植物中分离得到; 化合物 2、4、5 和 10 表现出显著的抗氧化活性, 其中黄酮类化合物 C-3 或 C-8 位连有糖链会降低其抗氧化活性。

关键词: 瑞香狼毒花; 黄酮; 木脂素; 抗氧化活性; 艾黄素; 槲皮素; 槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷; 紫云英苷; 乌拉尔醇

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)09-2395-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.014

Chemical constituents from flowers of *Stellera chamaejasme* and their antioxidant activity

ZHOU Hui-zhen¹, TANG Liang-jie¹, GONG Yu¹, LUO Wei¹, LI Li-mei², CHEN Hu-lan¹

1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines, Ministry of Education, State Key Laboratory Breeding Base of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources, Co-construction by Province and Ministry, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: Objective To investigate the flavonoids and lignans from the flowers of *Stellera chamaejasme* and their structure-activity relationship (SAR) of antioxidant activity. **Methods** The compounds were isolated by column chromatography and HPLC packed with macroporous resin, silica gel, and Sephadex LH-20. Their structures were elucidated by spectroscopic analysis. Their anti-oxidant activities *in vitro* were evaluated by DPPH, ABTS, and FRAP assays. **Results** Twelve compounds were isolated from the flowers of *S. chamaejasme*, and identified as artemisetin (1), quercetin (2), isoscuteallarein-8-O- β -D-glucuronopyranoside (3), quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside (4), astragalin (5), hypolaetin-8-O- β -D-glucuronopyranoside (6), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-O- α -L-xylopyranoside (7), *rel*-(3R,3'S,4R,4'S)-3,3',4,4'-tetrahydro-6,6'-dimethoxy [3,3'-bi-2H-benzopyran]-4,4'-diol (8), matairesinol (9), uralenol (10), cycloastragenol (11), and (+)-pinoresinol (12). **Conclusion** Compounds 1, 3, 5—7, and 10 are isolated from this plant for the first time, and compounds 2, 4, 5, and 10 showed significant antioxidant activity, and the SAR analysis suggested that the glycosylation at the C-8 or C-3 position of flavonoids could weaken their antioxidant activity.

Key words: *Stellera chamaejasme* L.; flavonoid; lignan; antioxidant activity; artemisetin; quercetin; quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside; astragalin; uralenol

收稿日期: 2020-02-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31870341); 四川省青年科技创新研究团队专项计划项目 (2016TD0006)

作者简介: 周蕙祯 (1995—), 女, 在读硕士, 专业方向为中药有效成分分析研究。E-mail: 1312161673@qq.com

*通信作者 李丽梅, 博士, 教授, 研究方向为中药及民族药的研究与开发。E-mail: limeili@swun.edu.cn

陈胡兰, 博士, 教授, 研究方向为中药有效成分及质量标准研究。Tel: (028)61800231 E-mail: hlan999@126.com

瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* L. 是瑞香科 (Thymelaeaceae) 狼毒属 *Stellera* Linn. 植物, 又名续毒、山萝卜、闷花头、一扫光、生扯拢等, 主要分布于我国西北、东北、河北、内蒙古及尼泊尔等地^[1]。瑞香狼毒始载于《神农本草经》, 为中药狼毒之正品, 主要药用部位为根^[1]。瑞香狼毒性味辛、苦、平, 归肺、脾、肝经, 有毒, 功能泻水逐饮、破积杀虫, 主治水肿腹胀、痰食虫积、心腹疼痛、疥癣、癥瘕积聚^[1]。

瑞香狼毒资源丰富, 药理活性广泛, 深受国内外学者的重视, 大量研究发现瑞香狼毒根茎中主要含有香豆素、黄酮、二萜以及木脂素等多种类型的化学成分, 这些化学成分具有抗 HIV、抑菌、抗肿瘤、抗病毒等多种药理活性^[1-2]。目前关于瑞香狼毒的研究报道主要集中于其根茎的化学成分及药理活性研究, 对瑞香狼毒花的研究很少^[1-3]。为更全面地研究和阐明瑞香狼毒的活性物质基础, 深入挖掘其药用价值, 综合开发利用该药用植物资源, 本实验对瑞香狼毒花的化学成分进行了系统研究, 从其甲醇提取物中分离得到 12 个化合物, 分别鉴定为艾蒿素 (artemisitin, **1**)、槲皮素 (quercetin, **2**)、isoscuteallarein-8-*O*- β -D-glucuronopyranoside (**3**)、槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷 (quercetin-3-*O*- β -D-

glucopyranoside, **4**)、紫云英苷 (astragalin, **5**)、hypolaetin-8-*O*- β -D-glucuronopyranoside (**6**)、kaempferol 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- α -L-xylopyranoside (**7**)、*rel*-(3*R*,3'*S*,4*R*,4'*S*)-3,3',4,4'-tetrahydro-6,6'-dimethoxy [3,3'-bi-2*H*-benzopyran]-4,4'-diol (**8**)、马台树脂醇 (matairesinol, **9**)、乌拉尔醇 (uralenol, **10**)、环黄芪醇 (cycloastragenol, **11**)、松脂醇 [(+)-pinoresinol, **12**], 化学结构见图 1。本研究中, 化合物 **1**、**3**、**5**~**7** 和 **10** 为首次从该植物中分离得到。体外抗氧化活性测试表明, 化合物 **2**、**4**、**5** 和 **10** 在 3 种不同抗氧化活性实验中均显示显著的抗氧化活性, 高于阳性对照维生素 C (VC)。

1 仪器与材料

Ascend 400 MHz 核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司); ODS C₁₈ 填料 (日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 (GE Healthcare 公司); 制备色谱柱 (250 mm $\times$ 10 mm, 10 μ m), 苏州纳微科技股份有限公司; LC-P100 高效液相色谱仪 (上海伍丰科学仪器有限公司); RE-2000 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); 薄层色谱板、柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂)。

实验所用试剂均为国产试剂。实验所用药材购自成都市荷花池药材市场, 经成都中医药大学药学院王光志教授鉴定为瑞香科狼毒属植物瑞香狼毒

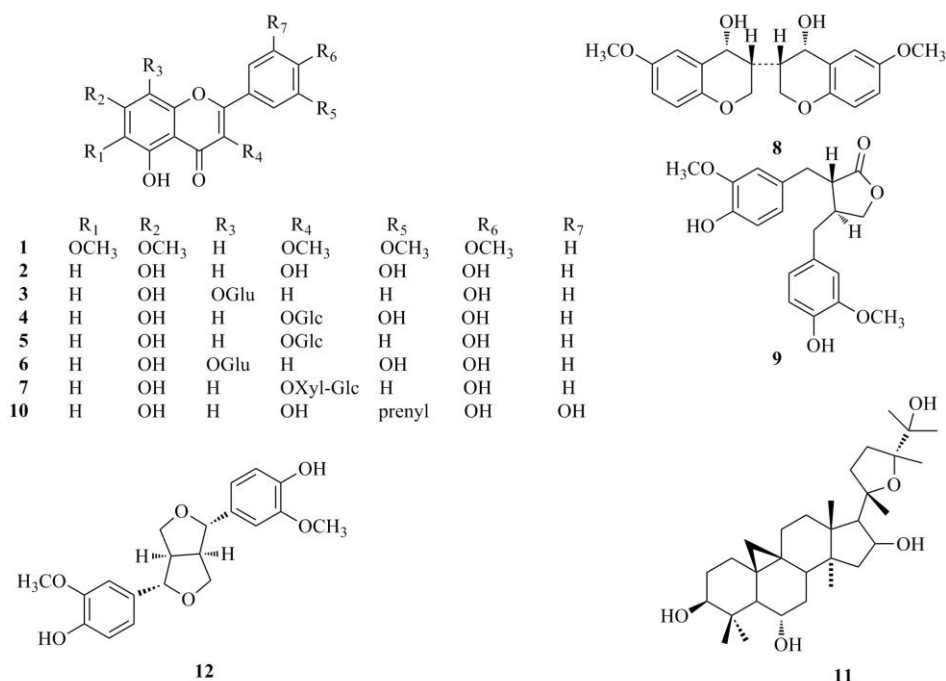


图 1 化合物 1~12 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—12

Stellera chamaejasme L. 的花。

2 提取与分离

取干燥的瑞香狼毒花 5.0 kg, 粉碎后, 用纯甲醇 50 °C 回流提取 3 次, 每次 3 h, 滤过, 合并提取液, 减压回收后得到总浸膏 500.0 g。将总浸膏以温水分散后依次用醋酸乙酯、正丁醇等体积萃取, 分别得到醋酸乙酯部位 148.3 g 和正丁醇部位 113.3 g。正丁醇部位浸膏 (113.3 g) 经大孔树脂, 甲醇-水 (0 : 100 → 100 : 0) 梯度洗脱, 得到 4 个组分, 即 Fr. 1 ~ 4。其中组分 Fr. 1 (3.0 g) 经 ODS 反相柱色谱, 甲醇-水 (10 : 90 → 100 : 0) 梯度洗脱, 再经重结晶分离得到化合物 **1** (80 mg)。Fr. 4 (8.0 g) 经硅胶柱色谱 (200 ~ 300 目), 二氯乙烷-甲醇 (50 : 1 → 1 : 1) 洗脱得到 4 个组分 Fr. 4-1 ~ 4-4, Fr. 4-1 (0.6 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (氯仿-甲醇 1 : 1) 分离得到化合物 **2** (15 mg)。Fr. 4-2 (0.2 g) 经半制备 HPLC 分离 (25% 乙腈-水 + 0.5% 乙酸, 体积流量 8 mL/min, 254 nm) 得到化合物 **3** (50 mg)。Fr. 4-3 (0.4 g) 经制备 HPLC 分离 (23% 乙腈-水, 体积流量 8 mL/min, 254 nm) 得到化合物 **4** (30 mg) 和 **5** (12 mg)。Fr. 4-4 (0.2 g) 经制备 HPLC 分离 (25% 乙腈-水, 体积流量 8 mL/min, 254 nm) 得到化合物 **6** (15 mg) 和 **7** (5 mg)。醋酸乙酯部位浸膏 (148.3 g) 经正相硅胶柱色谱 (200 ~ 300 目) 以二氯乙烷-甲醇体系 (100 : 1 → 0 : 1) 梯度洗, 得到 5 个组分, 即 Fr. 5 ~ 9。Fr. 5 (1.0 g) 经正相硅胶柱色谱 (200 ~ 300 目), 以二氯乙烷-甲醇 (60 : 1 → 10 : 1) 梯度洗脱, 洗脱馏分经制备 HPLC (35% 乙腈-水, 体积流量 8 mL/min, 254 nm) 分离得到化合物 **8** (10 mg) 和 **9** (8 mg)。Fr. 6 (0.4 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (氯仿-甲醇 1 : 1) 分离得到化合物 **10** (55 mg)。Fr. 9 (0.5 g) 经二次硅胶柱色谱 (200 ~ 300 目) 分离, 石油醚-醋酸乙酯 (30 : 1 → 1 : 1) 洗脱, 得到化合物 **11** (8 mg)、**12** (10 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色针晶 (二氯乙烷-甲醇)。ESI-MS m/z : 387.37 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{20}H_{20}O_8$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.73 (1H, dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, H-6'), 7.66 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.16 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5'), 6.93 (1H, s, H-8), 3.93 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.82 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.73 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.5 (C-4), 158.9 (C-7), 155.6 (C-2),

152.0 (C-9), 151.8 (C-4'), 151.5 (C-5), 148.6 (C-3'), 138.2 (C-3), 131.8 (C-6), 122.2 (C-1'), 111.7 (C-2'), 111.3 (C-5'), 105.7 (C-10), 91.6 (C-8), C-6', 60.1 (6-OCH₃), 59.8 (3-OCH₃), 56.6 (7-OCH₃), 56.6 (3'-OCH₃), 55.7 (4'-OCH₃)。上述数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定化合物 **1** 为艾黄素。

化合物 **2**: 淡黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 301.02 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.66 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.53 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.1 (C-4), 164.6 (C-7), 161.0 (C-9), 156.3 (C-5), 147.9 (C-2), 146.5 (C-4'), 145.4 (C-3'), 136.3 (C-3), 123.3 (C-1'), 120.9 (C-6'), 115.7 (C-2'), 115.3 (C-5'), 103.6 (C-10), 98.3 (C-6), 93.7 (C-8)。上述数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为槲皮素。

化合物 **3**: 淡黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 461.09 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{21}H_{18}O_{12}$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.06 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.83 (1H, s, H-3), 6.27 (1H, s, H-6), 4.80 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1''), 3.00 ~ 4.50 (5H, m, H-2'' ~ 6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.8 (C-4), 170.2 (C-6''), 163.9 (C-2), 161.2 (C-4'), 157.4 (C-5, 7), 149.3 (C-9), 128.9 (C-2', 6'), 125.2 (C-8), 121.1 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 106.4 (C-1''), 103.4 (C-10), 102.5 (C-3), 98.9 (C-6), 76.1 (C-3''), 75.3 (C-5''), 73.8 (C-2''), 71.5 (C-4'')。上述数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 isoscutellarein-8-O- β -D-glucuronopyranoside。

化合物 **4**: 淡黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 463.09 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.58 (2H, m, H-2', 6'), 6.84 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.46 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 3.58 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-2''), 3.32 (1H, m, H-3''), 3.22 (2H, m, H-4'', 5''), 3.08 (2H, d, $J = 3.8$ Hz, H₂-6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.9 (C-4), 164.6 (C-7), 161.2 (C-5), 156.8 (C-9), 156.6 (C-2), 148.7 (C-4'), 145.0 (C-3'), 133.8 (C-3), 122.0 (C-6'), 121.6 (C-1'), 116.7 (C-5'), 115.9 (C-2'), 104.4 (C-10), 101.2 (C-1''), 99.1 (C-6), 93.9 (C-8), 77.6 (C-5''), 76.5 (C-3''), 74.2 (C-2''), 70.3 (C-4''), 60.1

(C-6''). 上述数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷。

化合物 **5**: 淡黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 449.09 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.04 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-6), 5.46 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.56 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-6''α), 3.31 (1H, dd, $J = 6.9, 4.6$ Hz, H-6''β), 3.23~3.14 (2H, m, H-2'', 3''), 3.08 (2H, m, H-4'', 5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.3 (C-4), 164.5 (C-5), 161.7 (C-7), 160.1 (C-4'), 156.9 (C-2, 9), 133.7 (C-3), 131.6 (C-2', 6'), 121.4 (C-1'), 115.0 (C-3', 5'), 104.5 (C-10), 101.4 (C-1''), 99.2 (C-6), 94.2 (C-8), 78.0 (C-2'), 76.9 (C-3''), 74.7 (C-5''), 70.4 (C-4''), 61.7 (C-6'')。上述数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **5** 为紫云英苷。

化合物 **6**: 淡黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 479.01 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{18}O_{13}$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.64 (1H, dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, H-6'), 7.39 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.62 (1H, s, H-6), 6.27 (1H, s, H-3), 4.80 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1''), 3.76 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-2''), 3.52~3.42 (2H, m, H-3'', 4''), 3.32 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.8 (C-4), 170.1 (C-6''), 164.2 (C-2), 157.3 (C-5), 156.9 (C-7), 150.1 (C-9), 149.4 (C-4'), 145.6 (C-3'), 125.0 (C-8), 121.4 (C-1'), 119.3 (C-6'), 116.2 (C-5'), 113.6 (C-2'), 106.0 (C-1''), 103.5 (C-3), 102.4 (C-10), 98.9 (C-6), 76.1 (C-3''), 75.3 (C-5''), 73.8 (C-2''), 71.4 (C-4'')。上述数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **6** 为 hypolaetin-8-O-β-D-glucuronopyranoside。

化合物 **7**: 淡黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 581.00 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{26}H_{28}O_{15}$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.09 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 5.71 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 4.60 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'''), 3.7~3.0 (11H, m, H-2''~6'', 2'''~6'''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.5 (C-4), 164.1 (C-7), 161.3 (C-4'), 160.0 (C-5), 156.3 (C-2), 155.2 (C-9), 132.9 (C-3), 130.9 (C-2', 6'), 120.9 (C-1'), 115.2 (C-3', 5'), 104.5 (C-10), 103.9 (C-1'''), 98.7 (C-6), 97.8

(C-1''), 93.5 (C-8), 81.8 (C-2''), 77.6 (C-3''), 76.8 (C-3'''), 76.2 (C-5'''), 73.9 (C-2'''), 69.5 (C-4''), 69.4 (C-4'''), 65.8 (C-5''), 60.5 (C-6'')。上述数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为 kaempferol 3-O-β-D-glucopyranosyl-(1→2)-O-α-L-xylopyranoside。

化合物 **8**: 棕色油状物 (醋酸乙酯)。ESI-MS m/z : 359.01 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{22}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.89 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5, 5'), 6.88 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8, 8'), 6.82 (2H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-7, 7'), 4.74 (2H, d, $J = 4.1$ Hz, H-4, 4'), 4.25 (2H, dd, $J = 9.0, 6.8$ Hz, H-2a, 2'a), 3.89 (6H, s, OCH₃), 3.87 (2H, dd, $J = 10.0, 3.5$ Hz, H-2b, 2'b), 3.11 (2H, dd, $J = 6.4, 4.4$ Hz, H-3, 3'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 146.8 (C-6, 6'), 145.3 (C-9, 9'), 132.9 (C-10, 10'), 119.1 (C-7, 7'), 114.4 (C-8, 8'), 108.7 (C-5, 5'), 85.9 (C-4, 4'), 71.7 (C-2, 2'), 56.1 (OCH₃), 54.3 (C-3, 3')。上述数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为 *rel*-(3*R*,3'*S*,4*R*,4'*S*)-3,3',4,4'-tetrahydro-6,6'-dimethoxy [3,3'-bi-2*H*-benzopyran]-4,4'-diol。

化合物 **9**: 黄色油状物 (醋酸乙酯)。ESI-MS m/z : 359.06 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{22}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.83 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5, 5'), 6.63 (1H, $J = 1.5$ Hz, H-2), 6.62 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-6), 6.53 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-6'), 6.43 (1H, $J = 1.5$ Hz, H-2'), 4.17 (1H, dd, $J = 9.0, 7.2$ Hz, H-9'a), 3.91 (1H, dd, $J = 8.9, 7.3$ Hz, H-9'b), 3.83 (6H, s, OCH₃), 2.94 (2H, m, H₂-7), 2.70~2.44 (4H, m, H₂-7', H-8, 8'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 178.9 (C-9), 146.8 (C-3), 146.7 (C-3'), 144.6 (C-4), 144.5 (C-4'), 129.9 (C-1), 129.7 (C-1'), 122.2 (C-6), 121.4 (C-6'), 114.5 (C-5), 114.2 (C-5'), 111.6 (C-2), 111.1 (C-2'), 71.5 (C-9'), 55.9 (2×OCH₃), 46.7 (C-8), 41.1 (C-8'), 38.4 (C-7'), 34.7 (C-7)。上述数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为马台树脂醇。

化合物 **10**: 黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 371.35 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{18}O_7$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.59 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6'), 7.44 (1H, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.18 (d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.29 (1H, m, H-2''), 3.28 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 1.71 (6H, s, H-4'', 5''); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 177.5 (C-4), 165.7 (C-7), 162.7 (C-5), 158.4 (C-9), 148.5 (C-2), 146.9 (C-4'), 145.9 (C-3'), 137.3 (C-3), 133.4 (C-3''), 129.6

(C-6'), 123.9 (C-2''), 123.3 (C-5'), 122.1 (C-1'), 113.5 (C-2'), 104.6 (C-10), 99.3 (C-6), 94.4 (C-8), 29.3 (C-1''), 25.9 (C-5''), 17.9 (C-4''). 上述数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为乌拉尔醇。

化合物 **11**: 淡黄色晶体 (甲醇)。ESI-MS m/z : 359.14 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{30}H_{50}O_5$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.89 (1H, q, $J = 7.6$ Hz, H-16), 4.0 (1H, dd, $J = 9.0, 4.7$ Hz, H-24), 3.89 (1H, td, $J = 9.6, 3.6$ Hz, H-6), 3.61 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-3), 3.10 (2H, t, $J = 11.2, 6.9$ Hz, H-22), 2.19 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-17), 1.23 (3H, s, H-21), 1.17, 1.13, 1.11, 1.02, 0.88, 0.82 (各 3H, s, $7 \times CH_3$), 0.44 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-19a), 0.24 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-19b); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 86.2 (C-20), 80.6 (C-24), 76.8 (C-3), 72.2 (C-16), 70.5 (C-25), 66.9 (C-6), 57.4 (C-17), 52.7 (C-5), 46.2 (C-8), 45.9 (C-15), 45.3 (C-14), 44.2 (C-13), 41.1 (C-4), 40.2 (C-7), 37.6 (C-22), 33.9 (C-12), 32.4 (C-1), 31.8 (C-2), 30.3 (C-19), 30.0 (C-10), 28.9 (C-29), 28.5 (C-21), 27.8 (C-27), 27.3 (C-26), 26.6 (C-11), 25.4 (C-23), 20.8 (C-18), 20.1 (C-9), 19.8 (C-28), 15.4 (C-30)。上述数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **11** 为环黄芪醇。

化合物 **12**: 棕色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 359.36 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{22}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.90 (2H, s, H-2, 2'), 6.87 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5, 5'), 6.82 (2H, dd, $J = 8.2, 1.6$ Hz, H-6, 6'), 5.60 (2H, s, 4, 4'-OH), 4.74 (2H, d, $J = 4.3$ Hz, H-7, 7'), 4.25 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.90 (3H, s, OCH_3), 3.86 (2H, dd, $J = 6.0, 2.5$ Hz, H-9b, 9'b), 3.10 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 146.3 (C-3, 3'), 145.4 (C-4, 4'), 133.1 (C-1, 1'), 119.2 (C-6, 6'), 114.0 (C-5, 5'), 108.9 (C-2, 2'), 85.9 (C-7, 7'), 71.9 (C-9, 9'), 54.3 (C-8, 8')。上述数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **12** 为松脂醇。

4 抗氧化活性测定

4.1 DPPH 自由基清除率测定

DPPH 自由基清除率测定参照文献方法^[14-15]进行。准确称取 DPPH 2.0 mg, 以甲醇溶解, 配制成 0.2 mol/L 的 DPPH 贮备液, 避光冷藏备用。选取 VC 为阳性对照, 准确称取 1.0 mg 阳性药 VC 和样品溶解于 DMSO 中, 稀释成系列质量浓度 (100.0~3.0 $\mu g/mL$) 备用。取 100.0 μL DPPH 贮备液加至 96

孔板中, 再向各孔中加入一系列样品溶液和阳性对照溶液, 室温黑暗中放置 30 min, 反应完全后用酶标仪在 517 nm 处测定吸光度 (A) 值。每个样品设置 3 个复孔, 取平均值。样品对 DPPH 自由基清除率按照公式计算。DPPH 的清除能力用半数抑制浓度 (IC_{50}) 表示。

$$DPPH \text{ 清除率} = [A_0 - (A_i - A_1)] / A_0$$

A_0 为未加样品 DPPH 的 A 值, A_i 为样品与 DPPH 反应后的 A 值, A_1 为溶剂与 DPPH 的 A 值

4.2 ABTS^{•+}自由基清除率测定

ABTS^{•+}自由基清除率测定参照文献方法^[14-15]进行。ABTS^{•+}工作母液: 分别量取 7.0 mmol/L 的 ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 的过硫酸钾水溶液 1 mL, 两者等体积混合, 室温避光反应 12~16 h。ABTS^{•+}工作液: 用甲醇稀释 30~60 倍, 在 734 nm 处测 A 值为 $0.45 \pm 0.05 \sim 0.75 \pm 0.05$ 。取 100.0 μL ABTS^{•+}工作液加至 96 孔板中, 再向各孔中加入系列样品溶液 (100.0~5.0 $\mu g/mL$) 和阳性对照溶液, 避光反应 1 h, 反应完全后用酶标仪在 734 nm 处测定 A 值。每个样品设置 3 个复孔, 取平均值。样品对 ABTS^{•+}自由基清除率按照公式计算, ABTS^{•+}的清除能力用半数抑制浓度 (IC_{50}) 表示。

$$ABTS^{\bullet+} \text{ 清除率} = [A_0 - (A_i - A_1)] / A_0$$

A_0 为未加样品的 ABTS^{•+} A 值, A_i 为样品与 ABTS^{•+} 反应后的 A 值, A_1 为溶剂与 ABTS^{•+} 的 A 值

4.3 总抗氧化能力测定

总抗氧化能力检测参照文献采用 FRAP 法^[14-15], 样品的抗氧化活性以达到相同 A 值的硫酸亚铁浓度表示。FRAP 工作液: pH3.6 的醋酸缓冲液、10.0 mmol/L 的 TPTZ 溶液和 20.0 mmol/L 的 $FeCl_3$ 溶液按比例混合 (10:1:1), 现配现用。FRAP 工作液配制后 37 $^{\circ}C$ 水浴 15 min, 并于 2 h 内使用完毕。

标准曲线的绘制: 于 96 孔板中依次加入浓度为 0.5、0.4、0.3、0.2、0.1 mmol/L 的硫酸亚铁溶液 5.0 μL , 加入 180.0 μL FRAP 工作液, 混匀后 37 $^{\circ}C$ 孵育 10 min, 于 593 nm 处测定 A 值, 由 A 值 (Y) 对硫酸亚铁浓度 (X) 做回归直线方程得 $Y = 1.156 4 X + 0.120 2$, $r^2 = 0.998$ 。

取各化合物照上述方法测定 A_i , 根据标准曲线计算样品 FRAP 值, 总抗氧化能力用 FRAP (g/mmol) 表示。

4.4 数据统计

每个样品重复 3 次, 以 Excel 2010 软件处理数

据, 以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 结果见表 1。

4.5 结果

抗氧化活性测试结果如表 1 所示, 对 DPPH 自由基清除能力: $10 > 6 > 4 > 2 > 5 > 12 > 9 > 8 > VC$;

对 ABTS 自由基清除能力: $2 > 9 > 8 > 4 > 12 > 1 > 10 > 5 > VC$; 总抗氧化能力: $1 > 7 > 3 > 2 > 10 > 8 > 5 > 6 > 4$ 。综上所述, 化合物 2、4、5、10 的抗氧化活性最显著。

表 1 化合物 1~12 的抗氧化活性

Table 1 Anti-oxidant activities of compounds 1—12

化合物	DPPH IC ₅₀ /(mg mL ⁻¹)	ABTS ⁺⁺ IC ₅₀ /(mg mL ⁻¹)	FRAP/(g mmol ⁻¹)
1	—	0.006 2±0.000 1	2.582±0.250
2	0.013 5±0.000 1	0.001 9±0.000 0	0.100±0.001
3	—	0.051 1±0.010 4	1.015±0.470
4	0.012 4±0.001 7	0.003 0±0.000 1	0.029±0.001
5	0.013 9±0.000 0	0.007 0±0.000 0	0.058±0.000
6	0.011 6±0.000 2	0.050 0±0.001 8	0.043±0.000
7	—	0.244 3±0.032 7	1.460±0.090
8	0.051 1±0.015 4	0.002 8±0.000 1	0.061±0.003
9	0.044 7±0.004 3	0.002 4±0.000 0	—
10	0.003 8±0.000 1	0.006 8±0.000 2	0.072±0.003
11	—	0.597 7±0.017 8	—
12	0.014 6±0.001 2	0.004 6±0.000 0	—
VC	0.060 0±0.001 0	0.017 0±0.000 2	—

5 讨论

瑞香狼毒化学成分复杂, 种类多样, 其根茎的主要成分为二萜类、双香豆素类、双黄酮类化合物^[2-3], 二萜原酸酯类化合物是瑞香狼毒根茎部位特有的活性成分, 同时也是公认的毒性成分。本研究从瑞香狼毒花的醋酸乙酯、正丁醇萃取部位分离得到 8 个黄酮类化合物, 3 个木脂素类化合物及 1 个三萜类化合物, 没有分离得到二萜原酸酯类毒性成分。抗氧化活性测试结果表明分离获得的化合物都表现出良好的抗氧化活性。分析化合物结构及抗氧化活性之间的构效关系时发现, 黄酮类化合物 C-3 位羟基是其抗氧化活性关键的活性官能团, 当 C-3 位或 C-8 位与糖链相连时, 其抗氧化活性会减弱。化合物 10 的 B 环上含有一个异戊烯基, 据文献报道^[16], 该基团的引入往往使化合物具有更加突出的药理活性, 由此可推测化合物 10 的 B 环上连有的异戊烯基有利于增强其抗氧化活性。本研究结果对瑞香狼毒花的化学成分及生物活性有了较为深入的了解, 为瑞香狼毒的开发利用提供一定的科学依据。

参考文献

[1] 南京中医药大学. 中药大辞典 (上册) [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.

- [2] 吴春雨. 瑞香狼毒花化学成分的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2013.
- [3] 张慧文, 鞠爱华, 周秀娟. 瑞香狼毒化学成分与生物活性研究进展 [J]. 中药材, 2006, 29(11): 1257-1261.
- [4] Venkateswararao E, Son M J, Sharma N, et al. Exploration of pharmacophore in chrysosplenol C as activator in ventricular myocyte contraction [J]. *Med Chem Lett*, 2015, 6(7): 758-763.
- [5] Meng Q Y, Li G Z, Luo B, et al. Screening and isolation of natural antioxidants from *Ziziphora clinopodioides* Lam. with high performance liquid chromatography coupled to a post-column Ce (IV) reduction capacity assay [J]. *RSC Adv*, 2016, 6(67): 62378-62384.
- [6] Billeter M, Meier B, Sticher O. 8-Hydroxyflavonoid glucuronides from *Malva sylvestris* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(3): 987-990.
- [7] Jin H Z, Chen G, Li X F, et al. Flavonoids from *Rhododendron decorum* [J]. *Chem Nat Compd*, 2009, 45(1): 85-86.
- [8] Nishina, A, Itagaki M, Suzuki Y, et al. Effects of flavonoids and triterpene analogues from leaves of *Eleutherococcus sieboldianus* (Makino) Koidz. 'Himeukogi' in 3T3-L1 preadipocytes [J]. *Molecules*, 2017, 22(4): 671.

- [9] Fiorentino A, Ricci A, D'Abrosca B, *et al.* Kaempferol glycosides from *Lobularia maritima* and their potential role in plant interactions [J]. *Chem Biodivers*, 2009, 6(2): 204-217.
- [10] Yang G Z, Yin X Q, Li Y C. Chemical constituents of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Helv Chim Acta*, 2000, 83(12): 3344-3350.
- [11] 刘淑娜. 瑞香狼毒的化学成分和生物活性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [12] Ji S, Li Z W, Song W, *et al.* Bioactive constituents of *Glycyrrhiza uralensis* (Licorice): Discovery of the effective components of a traditional herbal medicine [J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(2): 281-292.
- [13] Zhanibekov A A, Naubeev T K, Uteniyazov K K, *et al.* Triterpene glycosides from *Astragalus*. Structure of cyclolehmanside C from *A. lehmannianus* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(3): 475-477.
- [14] Lee C L, Liao K C, Chen C C, *et al.* Characterization of secondary metabolites from the rhizome of *Cynara scolymus* and their antioxidant properties [J]. *Nat Prod Res*, 2019, doi: 10.1080/14786419.2019.1645664.
- [15] 孟宪华, 尚贤毅, 杨军丽. 青花椒中酚类化学成分及其抗氧化活性 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2095-2101.
- [16] 伍宇娟, 张刘强, 李医明. 甘草属植物中异戊烯基黄酮类成分及其药理活性研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41(6): 1358-1365.