

红小米黄酒心肌保护作用及活性成分研究

李 爽, 陈林玉, 王东浩, 李英梅, 刘藤藤, 娄舒奇, 毕跃峰*

郑州大学药学院, 河南 郑州 450001

摘 要: **目的** 选用 2 种河南南阳红小米黄酒和 1 种糯米黄酒, 对比研究其心肌保护作用及红小米黄酒活性成分。**方法** 采用过氧化氢作用于心肌细胞, 建立氧化应激损伤模型, CCK-8 法测定细胞活力; 比色法测定细胞乳酸脱氢酶、超氧化物歧化酶和丙二醛的含量。利用普鲁士蓝显色法和亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法测定了总酚酸、总黄酮含量以及相关营养成分含量。并采用硅胶、ODS 等柱色谱方法, 结合各种波谱分析技术, 对红小米黄酒中的化学成分进行了系统研究。**结果** 3 种黄酒对过氧化氢氧化损伤心肌细胞均有一定程度的保护作用, 特别是红小米黄酒作用显著; 从红小米黄酒中分离得到了 17 个化合物, 主要为酚酸类和黄酮类化合物, 含量测定结果表明红小米黄酒中总酚酸、总黄酮及 γ -氨基丁酸含量均最高。**结论** 红小米黄酒对氧化损伤细胞具有良好的保护作用, 其主要活性成分为总酚酸、总黄酮及 γ -氨基丁酸。

关键词: 红小米黄酒; 心肌保护; 含量测定; 总酚酸; 总黄酮; γ -氨基丁酸

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)22-7010-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.22.004

Cardioprotective effects and active components of red millet Huangjiu

LI Shuang, CHEN Lin-yu, WANG Dong-hao, LI Ying-mei, LIU Teng-teng, LOU Shu-qi, BI Yue-feng

Pharmacy College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

Abstract: Objective In this paper, two kinds of Henan Nanyang red millet Huangjiu and one kind of glutinous Huangjiu were selected to compare and study their myocardial protective effects and active components of red millet Huangjiu. **Methods** The oxidative stress injury model was established by applying hydrogen peroxide (H_2O_2) to cardiomyocytes. The cell viability was measured by CCK-8 assay; The levels of cellular lactate dehydrogenase (LDH), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were measured colorimetrically. The contents of total phenolic acids, total flavonoids, as well as related nutritional components were determined using the Prussian blue chromogenic method and the sodium nitrite aluminum nitrate sodium hydroxide chromogenic method. A systematic study of the chemical constituents in red millet Huangjiu was carried out using column chromatography methods such as silica gel and ODS, combined with various spectroscopic techniques. **Results** All 3 kinds of Huangjiu exhibited some degree of protection on cardiomyocytes from oxidative damage by H_2O_2 , especially the red millet Huangjiu exhibited significant protection. A total of 17 compounds, mainly phenolic acids and flavonoids, were isolated from red millet Huangjiu. The results of content determination showed that the red millet Huangjiu had the highest contents of total phenolic acids, total flavonoids as well as γ -aminobutyric acid. **Conclusion** Red millet Huangjiu has a good protective effect on the cells damaged by oxidation, and its main active components were total phenolic acid, total flavonoids and γ -aminobutyric acid.

Key words: red millet Huangjiu; myocardial protection; content determination; total phenolic acid; total flavonoids; γ -aminobutyric acid

黄酒是世界上最古老的酒种之一, 与葡萄酒、啤酒合称为“世界三大古酒”。研究表明, 黄酒含有酚酸、氨基酸、醇和酯类等成分^[1], 因其营养丰富, 素有“液体蛋糕”的美誉。黄酒性温, 具有活血、通经、保护心血管等作用, 也常作为中药炮制辅

料用于改善药性。但目前研究较多的是南方黄酒, 主要包括浙江绍兴黄酒、福州红曲黄酒等, 大多以糯米为原料^[2]。北方黄酒多以小米为原料, 其中南阳黄酒以红小米为原料, 风味独特, 具有很高的营养价值, 为河南南阳特色产业, 但关于红小米黄酒心肌

收稿日期: 2022-07-14

作者简介: 李 爽 (1998—), 女, 在读硕士研究生, 专业方向为药学。E-mail: lis0801@163.com。

*通信作者: 毕跃峰, 女, 博士后, 教授, 研究生导师, 研究方向为中药作用物质基础、作用机制研究及新药研究开发。

Tel: 13939091607 E-mail: 2000byf@sina.com

保护作用及活性成分系统研究尚未见报道。通过文献查询, γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 是目前研究较为深入的一种重要的抑制性神经递质, 它参与多种代谢活动, 能对抗多种实验性心律失常^[3], 具有较好的生理活性; 磷 (P) 参与机体多种生理活动, 是使心脏有规律地跳动、维持肾脏正常机能和传达神经刺激的重要物质, 提示二者可能为红小米黄酒中与心肌保护相关的营养成分。

本实验利用 H9c2 细胞的过氧化氢 (H_2O_2) 损伤模型, 通过测定细胞活力、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 含量等指标, 从细胞水平上探讨红小米红曲黄酒 [CRW-XY(RK)]、红小米黄酒 (CRW-XY) 和绍兴糯米麦曲黄酒 (CRW-SX) 对氧化损伤细胞的保护作用, 发现 CRW-XY 对心肌细胞的保护作用最好。并对 3 种黄酒主要成分总酚酸、总黄酮、相关营养成分 γ -氨基丁酸和磷进行了含量测定及比较分析。再采用硅胶、ODS 等柱色谱方法, 结合各种波谱分析技术, 对 CRW-XY 中的化学成分进行了系统研究, 以期对 CRW-XY 质量标准体系的建立提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UV-2550 紫外-分光光度计 (日本岛津公司); SW-CJ-2D 超净工作台 (苏州名牌之星仪器有限公司); CO_2 恒温培养箱 (美国 Thermo Fisher 公司); 37XB 倒置显微镜 (上海光学仪器五厂); Research plus 多功能酶标仪 (美国 Bio Tek 公司)。

1.2 样品与试剂

CRW-XY(RK) (批号 20200805)、CRW-XY (批号 20200807) 均购自河南省南阳市新野县, 古越龙山沈永和陈年黄酒 CRW-SX (批号 20200822) 购自浙江省绍兴市; 样品目前保存于郑州大学药学院实验室。所用试剂均为国产分析纯。

H9c2 心肌细胞系 (CRL-1446TM) 购自美国典型培养物保藏中心。

对照品没食子酸 (批号 110831-201906)、芦丁 (批号 100080-201811) 质量分数均为 94.2%, 购自于中国食品药品检定研究院; 阳性药白藜芦醇 (resveratrol, 北京索莱宝科技有限公司, 货号 R8350); LDH 测定试剂盒 (碧云天生物技术有限公司); 总蛋白定量试剂盒 (BCA 法)、MDA 测定试

剂盒、SOD 测定试剂盒、GSH 测定试剂盒 (南京建成生物公司); CCK-8 试剂盒 (郑州德雅有限公司)。

2 方法

2.1 3 种黄酒心肌保护作用研究

2.1.1 H9c2 心肌细胞培养、分组与模型建立 将 H9c2 细胞置于 CO_2 培养箱中 ($37\text{ }^\circ\text{C}$ 、5% CO_2) 进行培养, 当细胞数量达到 80% 以上时, 使用血球计数板对细胞计数, 调整细胞浓度, 以 5×10^3 个/孔接种于 96 孔板。将培养好的 H9c2 心肌细胞分为对照组、 H_2O_2 组、阳性药组、给药组 ($55\text{ }^\circ\text{C}$ 减压浓缩下所得黄酒浸膏)。对照组不给予任何处理正常培养 H9c2 心肌细胞; H_2O_2 组给予 $300\text{ }\mu\text{mol/L}$ 处理正常培养的 H9c2 心肌细胞; 阳性药组加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ 的 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的白藜芦醇溶液; 给药组分别加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ 不同质量浓度 (0.1 、 0.5 、 1.0 mg/mL) 黄酒溶液。每组每个质量浓度均设 6 个复孔。加样作用 24 h 后, 除对照组, 弃去原培养基, 加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ $300\text{ }\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 溶液, 培养 2 h, 可观察到细胞形态出现皱缩, 折光率减小以及细胞空泡化, 即为 H_2O_2 氧化应激模型^[4]。

2.1.2 CCK-8 法测定细胞活力 弃去原培养基, 每孔中加入 $200\text{ }\mu\text{L}$ 配好的 CCK-8 溶液, 摇匀后 CO_2 培养箱 ($37\text{ }^\circ\text{C}$ 、5% CO_2) 孵育 4 h, 450 nm 下检测各孔吸光度 (A) 值。

2.1.3 抗氧化指标的测定 将 H9c2 细胞接种于 6 孔板内, 细胞密度为 30×10^4 个/孔, 分组及药物处理同“2.1.1”项。2 mL $500\text{ }\mu\text{mol/L}$ 的 H_2O_2 作用心肌细胞 2 h 后, 收集细胞培养基, 标记好组别, 用于 LDH 活力检测 (胞外)。细胞用 PBS 清洗 2 次, $400\text{ }\mu\text{L}$ 胰蛋白酶进行消化, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 、 3500 r/min 离心 5 min, 收集细胞沉淀。加入 $500\text{ }\mu\text{L}$ $4\text{ }^\circ\text{C}$ 预冷的 PBS, 冰浴条件下超声破碎细胞, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 、 3500 r/min 离心 5 min, 取上清检测 LDH 活力 (胞内)。MDA、SOD、GSH 含量的计算均以蛋白含量为基础, 蛋白含量测定采用 BCA 法, 以上抗氧化指标的测定均使用试剂盒检测, 所有操作严格按说明书进行。

2.2 总酚酸及总黄酮含量测定

测定 CRW-XY(RK)、CRW-XY 中总酚酸和总黄酮含量, 同时对比 CRW-SX, 采用普鲁士蓝显色法^[5-6]测定总酚酸含量, 亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法^[7]测定总黄酮含量。

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸和芦丁对照品适量, 分别用甲醇和 70%乙醇溶解后转移至

量瓶, 配制成质量浓度为 0.1 mg/mL 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 3 种黄酒各精密量取适量体积, 55 °C 减压浓缩至恒定质量, 得总浸膏, 精密称取 3 种黄酒总浸膏各 100 mg, 用 70% 乙醇溶解后转移至 10 mL 量瓶, 配制成质量浓度为 10 mg/mL 的供试品溶液。

2.2.3 总酚酸测定的方法学考察

(1) 线性关系考察: 采用普鲁士蓝显色法^[5-6]测定总酚酸含量, 精密移取没食子酸对照品溶液 0、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mL 于 25 mL 量瓶, 加入 5 mL 甲醇、2 mL SDS 溶液及 1 mL $\text{FeCl}_3\text{-K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 混合溶液, 暗处静置 5 min; 盐酸溶液定容, 摇匀, 静置 20 min, 在 743 nm 处测定吸光度 (A)。以对照品质量浓度为横坐标 (X), A 值为纵坐标 (Y), 进行线性分析, 得线性方程 $Y=0.0354X+0.0091$, $R^2=0.9995$, 结果表明没食子酸在 5~30 μg 线性关系良好。

(2) 精密度试验: 吸取 0.10 mL 供试品溶液, 测定 A 值, 重复操作 6 次, 结果 3 个样品 RSD 均小于 2%, 说明此试验精密度良好。

(3) 稳定性试验: 吸取 0.10 mL 供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12 h 测定 A 值, 结果 3 个样品 RSD 均小于 2%, 说明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

(4) 重复性试验: 精密称取 6 份样品按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。精密吸取 0.10 mL, 测定 A 值, 结果 3 个样品 RSD 均小于 2%, 说明此方法重复性良好。

(5) 加样回收率试验: 分别吸取 6 份 0.05 mL 供试品溶液及 0.10 mL 对照品溶液, 于 25 mL 量瓶中, 显色后测定 A 值。计算加样回收率, CRW-XY(RK)、CRW-XY 和 CRW-SX 的平均加样回收率分别为 99.84%、99.39%、99.55%, 3 个样品 RSD 值均小于 3.0%, 说明此方法的回收率良好。

2.2.4 总黄酮测定的方法学考察

(1) 线性关系考察: 亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠显色法^[7]测定总黄酮含量, 精密移取芦丁对照品溶液 0、0.2、0.4、0.8、1.0、1.2 mL 于 25 mL 量瓶中, 依次加入 5 mL 乙醇, 1 mL NaNO_2 溶液, 摇匀, 暗处静置 6 min。加入 1 mL $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液, 暗处静置 6 min。加入 10 mL NaOH 溶液, 乙醇定容, 摇匀, 暗处静置 15 min, 在 356 nm 处测定 A 值。以对照品质量浓度为横坐标 (X), A 为纵坐标 (Y), 进行线性分析, 得线性方程 $Y=0.0085X-0.0037$,

$R^2=0.9996$, 结果表明芦丁在 20~120 μg 线性关系良好。

(2) 精密度试验: 分别吸取 3 种供试品溶液 0.10 mL, 测定 A 值, 重复操作 6 次, 结果 3 个样品 RSD 均小于 2%, 说明此试验精密度良好。

(3) 稳定性试验: 吸取 0.10 mL 供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、12 h 测定 A 值, 结果 3 个样品 RSD 均小于 2%, 说明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

(4) 重复性试验: 精密称取 6 份样品按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。精密吸取 0.10 mL, 测定 A 值, 结果 3 个样品 RSD 均小于 2%, 说明此方法重复性良好。

(5) 加样回收率试验: 分别吸取 6 份 0.05 mL 供试品溶液及 0.40 mL 对照品溶液于 25 mL 量瓶, 显色后测定吸光度。计算加样回收率, CRW-XY(RK)、CRW-XY 和 CRW-SX 的平均加样回收率分别为 99.72%、99.68%、99.79%, 3 个样品 RSD 值均小于 2.0%, 说明此方法回收率良好。

2.3 相关营养成分测定

测定 CRW-XY(RK)、CRW-XY 中相关营养成分含量, 同时对比 CRW-SX。氨基酸含量测定参考《食品中氨基酸的测定 (GB 5009.124-2016)》进行^[8]; 微量元素磷的含量测定参考 GB 5009.87-2016 进行。

2.4 CRW-XY 分离与结构鉴定

量取 2 L CRW-XY, 55 °C 减压浓缩, 得总浸膏 (62.3 g)。取 35.0 g 总浸膏, 6 倍量甲醇重复萃取 7 次, 得 CRW-XY 甲醇部位浸膏 (CRW-A, 29.6 g), 得膏率为 84.57%。CRW-A 采用硅胶柱色谱 (200~300 目, 110 cm×20 cm), 二氯甲烷-醋酸乙酯 (2:1)、醋酸乙酯-95%乙醇-水 (10:2:1、8:2:1) 及醋酸乙酯-甲醇-30%甲酸水溶液 (6:2:1.5) 梯度洗脱, TLC 分析合并得到 10 个组分 Fr. 1~10。

Fr. 1 (8.26 g) 经硅胶柱色谱二氯甲烷-丙酮 (4:1) 洗脱, TLC 分析合并得 5 个组分 Fr. 1a~1e。Fr. 1c 反复经硅胶柱二氯甲烷-甲醇 (5:1) 及石油醚、甲醇重结晶, 得到化合物 **1** (10.14 mg)、**2** (9.28 mg)、**3** (16.78 mg)。Fr. 1b 经硅胶柱色谱石油醚-醋酸乙酯 (12:1), 乙醇重结晶得化合物 **5** (37.76 mg), 此组分再经硅胶柱色谱石油醚-二氯甲烷 (1:1), 得到化合物 **7** (12.97 mg)。Fr. 1d 经硅胶柱色谱二氯甲烷-醋酸乙酯-甲酸 (5:3:1), 甲醇重结晶得到化合物 **6** (12.42 mg)、**13** (15.33 mg)。

Fr. 3 (1.26 g) 经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (10:1、5:1) 梯度洗脱, TLC 分析合并得 2 个组分 Fr. 3a~3b。Fr. 3a 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 [甲醇-水 (2:8、3:7)] 洗脱, 得到化合物 **12** (11.24 mg)、**14** (8.99 mg)。

Fr. 4 (2.30 g) 经 ODS 柱色谱 [甲醇-水 (100:1→1:100)] 梯度洗脱, 得 7 个组分 Fr. 4a~4g。Fr. 4b (582.17 mg) 经硅胶柱色谱二氯甲烷-甲醇 (3:1) 洗脱, 得到化合物 **4** (96.11 mg)、**17** (10.01 mg)。Fr. 4f (575.57 mg) 反复 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 [甲醇-水 (2:8)]、硅胶柱色谱二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到化合物 **8** (36.95 mg)、**9** (27.33 mg)。

Fr. 7 (369.75 mg) 经硅胶柱色谱醋酸乙酯-95% 乙醇-水 (6:2:1) 洗脱, TLC 分析合并得 3 个组分 Fr. 7a~7c。Fr. 7c 经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (3:1、1:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **10** (11.52 mg)。

Fr. 9 (3.10 g) 经硅胶柱色谱醋酸乙酯-水-甲酸 (8:1:1), 反复用乙醇重结晶及沉淀法, 得到化合物 **11** (47.86 mg)、**16** (20.72 mg)。

Fr. 10 (3.10 g) 经硅胶柱色谱, 醋酸乙酯-水-甲酸 (8:1:1、6:1:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **15** (17.53 mg)。

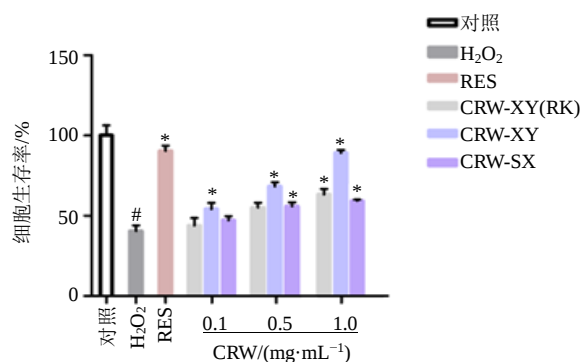
3 结果

3.1 心肌保护作用

3.1.1 细胞活力检测 3 种黄酒分别给药 0.1、0.5、1.0 mg/mL, CCK-8 法检测细胞活力结果见图 1。与对照组比较, H₂O₂ 组细胞生存率显著降低 ($P<0.05$), 说明模型建立成功。与 H₂O₂ 组相比, RES (10 μmol/L) 及 3 种黄酒 (1.0 mg/mL) 对细胞预处理后, 细胞生存率显著升高 ($P<0.05$), 说明其均有一定预防 H₂O₂ 氧化应激作用。其中 CRW-XY 在 1.0 mg/mL 时效果最佳, 接近于阳性药白藜芦醇。

3.1.2 抗氧化指标的测定结果 按试剂盒说明书检测 LDH 漏出率, 结果见图 2。与对照组比较, H₂O₂ 组细胞 LDH 漏出率显著升高, 但在给 RES (10 μmol/L) 及 3 种黄酒 (1.0 mg/mL) 对细胞预保护之后, 漏出率有所降低 ($P<0.05$), 具有统计学意义, 说明 RES 及 3 种黄酒对 H₂O₂ 氧化应激反应可以起到一定预防作用, 其中 CRW-XY 预防效果最好。

按试剂盒说明书检测 MDA、SOD 及 GSH 含量, 结果见图 3。与对照组比较, H₂O₂ 组细胞 MDA 含量显著升高 ($P<0.001$), 说明模型建立成功; 与 H₂O₂



RES-白藜芦醇; 与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$; 与 H₂O₂ 组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$, 下同
RES-resveratrol * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs H₂O₂ group, same as below figures

图1 不同质量浓度黄酒对 H₂O₂ 致 H9c2 心肌细胞氧化应激细胞生存率影响

Fig. 1 Effect of different concentrations of Huangjiu on cell viability against oxidative stress in H9c2 cardiac cells induced by H₂O₂

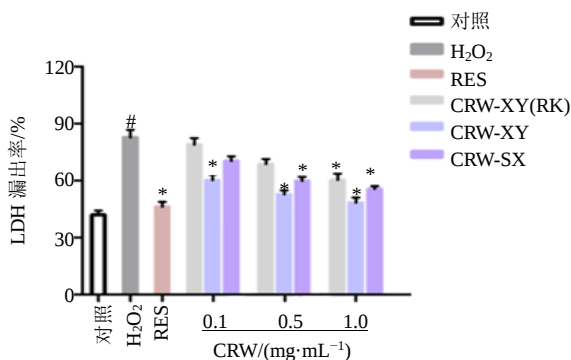


图2 不同浓度黄酒对 H₂O₂ 致 H9c2 心肌细胞氧化应激细胞 LDH 漏出率影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of Huangjiu on LDH leakage rate in H9c2 cardiac cells with oxidative stress induced by H₂O₂

组相比, RES (10 μmol/L) 及各给药组 (1.0 mg/mL) MDA 含量均有一定降低, 特别是 CRW-XY 在 1.0 mg/mL 质量浓度下, MDA 降低至 3.22 nmol/mg, 接近于 RES。与对照组相比, H₂O₂ 组细胞 SOD 及 GSH 含量显著降低 ($P<0.01$), 说明模型建立成功; 与 H₂O₂ 组相比, RES (10 μmol/L) 及各给药组 (1.0 mg/mL) SOD 及 GSH 含量升高, 说明 3 种黄酒均有一定预防 H₂O₂ 氧化应激作用, 特别是 CRW-XY 在 1.0 mg/mL 质量浓度下, 预防效果接近于 RES。

3.2 总酚酸测定结果

分别吸取 0.10 mL 的供试品溶液, 测定 A 值,

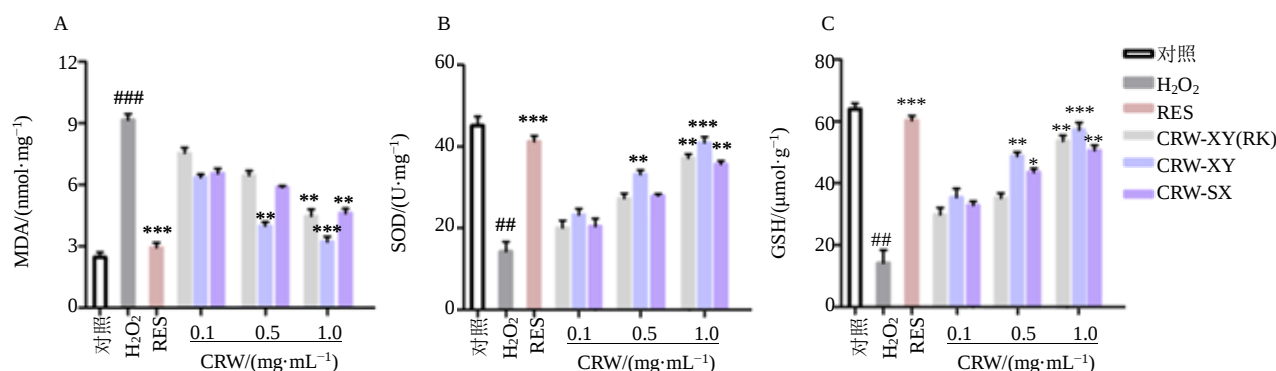


图 3 黄酒对 H₂O₂ 损伤 H9c2 心肌细胞内 MDA (A)、SOD (B) 及 GSH (C) 含量的影响

Fig. 3 Effects of Huangjiu on intracellular levels of MDA (A), SOD (B) and GSH (C) in H9c2 cardiac cells injured by H₂O₂

根据线性方程计算样品含量, 结果见表 1, 表明 CRW-XY 总酚酸含量最高。

3.3 总黄酮测定结果

分别吸取 0.10 mL 的供试品溶液, 测定 A 值, 根据线性方程计算样品含量, 结果见表 2。3 个样品 RSD 值均小于 2.0%, 结果表明 CRW-XY 总黄酮含量最高。

表 1 样品总酚酸含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Determination results of total phenolic acid content of samples ($\bar{x} \pm s, n=6$)

样品	总酚酸量/ μg	折合成原液后总酚酸/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
CRW-XY(RK)	9.799 $\pm$ 0.223	0.509 $\pm$ 0.012
CRW-XY	11.014 $\pm$ 0.195	1.530 $\pm$ 0.027
CRW-SX	15.223 $\pm$ 0.195	0.662 $\pm$ 0.008

表 2 样品总黄酮含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Determination results of total flavone content in samples ($\bar{x} \pm s, n=6$)

样品	总黄酮量/ μg	折合成原液后总黄酮/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
CRW-XY(RK)	81.259 $\pm$ 3.729	4.217 $\pm$ 0.194
CRW-XY	81.612 $\pm$ 2.553	11.336 $\pm$ 0.355
CRW-SX	76.318 $\pm$ 2.200	3.320 $\pm$ 0.096

3.4 相关营养成分结果分析

γ -氨基丁酸和 P 都具有保护心脏作用, 可对抗多种心律失常。本实验对 3 种黄酒中与心肌保护作用相关的营养成分 γ -氨基丁酸和 P 进行含量测定, 结果见表 3。表明 CRW-XY 中的 γ -氨基丁酸含量最高, P 含量相对较高, 提示二者也为 CRW-XY 心肌保护作用的物质基础。

3.5 化合物结构鉴定

从 CRW-XY 中共分离得到 17 个化合物, 分别

表 3 3 种黄酒中相关营养成分含量测定结果

Table 3 Results of determination of relevant nutrients in three kinds of Huangjiu

样品	质量分数/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	
	γ -氨基丁酸	P
CRW-XY(RK)	7.1 $\pm$ 0.8 ^e	48.4 $\pm$ 1.0 ^e
CRW-XY	104.8 $\pm$ 1.2 ^b	120.0 $\pm$ 3.5 ^c
CRW-SX	43.1 $\pm$ 1.8 ^c	258.0 $\pm$ 5.6 ^b

同行上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

significant differences are indicated by different superscript letters of the counterparts ($P < 0.05$)

进行结构确证。

化合物 1: 淡黄色粉末, mp 89~92 °C, 硅胶板检识, $\text{FeCl}_3\text{-K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 显色为蓝色, 提示该物质为酚类物质。ESI-MS m/z 137.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.10 (1H, s, -OH), 7.09 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.78 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 4.77 (1H, s, 8-OH), 3.82 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, H-8), 2.79 (2H, d, $J = 6.5$ Hz, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 154.3 (C-4), 133.6 (C-1), 130.2 (C-2, 6), 115.5 (C-3, 5), 63.8 (C-8), 38.2 (C-7)。上述数据与文献报道基本一致^[9-10], 鉴定化合物 1 为对羟基苯乙醇。

化合物 2: 白色针晶 (石油醚), mp 168~172 °C, 硅胶板检识, $\text{FeCl}_3\text{-K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 显色为蓝色, 溴酚蓝显色为黄色, 提示该物质为酚酸类物质。ESI-MS m/z 195.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, MeOD) δ : 7.56 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.14 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 7.02 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-6), 6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.27 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 3.85 (3H, s, -OCH₃)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, MeOD) δ : 171.0 (-COOH),

150.5 (C-4), 149.4 (C-3), 146.9 (C-7), 127.8 (C-1), 124.0 (C-6), 116.5 (C-8), 115.9 (C-2), 111.7 (C-5), 56.4 (-OCH₃)。上述数据与文献报道基本一致^[11-12], 鉴定化合物 **2** 为阿魏酸。

化合物 **3**: 白色针晶 (甲醇), mp 211~213 °C, 硅胶板检识, FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆] 显色为蓝色, 溴酚蓝显示阳性, 提示该物质为酚酸类物质。ESI-MS *m/z* 181.1 [M+H]⁺, 分子式为 C₉H₈O₄。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.53 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7), 7.03 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 6.93 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 6.22 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 171.2 (-COOH), 149.6 (C-4), 147.2 (C-3), 146.9 (C-7), 127.9 (C-1), 123.0 (C-6), 116.6 (C-5), 115.7 (C-8), 115.2 (C-2)。上述数据与文献报道基本一致^[13-14], 鉴定化合物 **3** 为咖啡酸。

化合物 **4**: 无色针晶 (甲醇), mp 118~120 °C, 硅胶板检识, 乙醇-浓硫酸显色加热呈紫红色。ESI-MS *m/z* 121.1 [M-H]⁻, 分子式为 C₄H₁₀O₄。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 3.70 (2H, dd, *J* = 10.3, 5.0 Hz, H-2, 3), 3.58 (8H, ddd, *J* = 17.5, 11.4, 5.3 Hz, 1, 2, 3, 4-OH, H-1, 4)。¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 73.6 (C-2, 3), 64.0 (C-1, 4)。上述数据与文献报道基本一致^[15-16], 鉴定化合物 **4** 为赤藓糖醇。

化合物 **5**: 无色片状结晶 (乙醇), mp 300 °C, 硅胶板检识, FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆] 显色为蓝色, 提示该物质为酚类物质。ESI-MS *m/z* 109.0 [M-H]⁻, 分子式为 C₆H₆O₂。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.81 (2H, s, H-1, 2), 6.74 (2H, m, H-3, 6), 6.61 (2H, m, H-4, 5); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 145.4 (C-1, 2), 119.4 (C-4, 5), 115.8 (C-3, 6)。上述数据与文献报道基本一致^[17], 鉴定化合物 **5** 为儿茶酚。

化合物 **6**: 淡黄色粉末, mp 175~176 °C, 硅胶板检识, AlCl₃ 显色后加热, 365 nm 显黄色荧光, 提示该物质为黄酮类物质。ESI-MS *m/z* 291.2 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₄O₆。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 6.84 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 6.72 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6'), 5.92 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-6), 5.85 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-8), 4.56 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-2), 3.97 (1H, dd, *J* = 13.2, 7.9 Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, *J* = 16.1, 5.4 Hz, H-4a), 2.50 (1H, dd, *J* = 16.1, 8.2 Hz, H-4b); ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 158.0 (C-7), 157.7 (C-5), 157.1

(C-9), 146.3 (C-3', 4'), 132.4 (C-1'), 120.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 115.4 (C-2'), 101.0 (C-10), 96.4 (C-6), 95.6 (C-8), 82.9 (C-2), 69.0 (C-3), 28.7 (C-4)。上述数据与文献报道基本一致^[18-19], 鉴定化合物 **6** 为儿茶素。

化合物 **7**: 白色粉末, mp 205~209 °C, 硅胶板检识, FeCl₃-K₃[Fe(CN)₆] 显色为蓝色, 溴酚蓝显阳性, 提示该物质为酚酸类物质。ESI-MS *m/z* 196.9 [M-H]⁻, 分子式为 C₉H₁₀O₅。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.33 (1H, s, H-2, 6), 3.88 (6H, s, 8, 9-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 170.0 (C-7), 148.9 (C-3, 5), 120.8 (C-1), 108.3 (C-2, 6), 56.8 (C-8, 9)。上述数据与文献报道基本一致^[20-21], 鉴定化合物 **7** 为丁香酸。

化合物 **8**: 黄色粉末, mp 195 °C, 硅胶板检识, AlCl₃ 显色后加热, 365 nm 显黄色荧光, 提示该物质为黄酮类物质。ESI-MS *m/z* 608.9 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₇H₃₀O₁₆。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.60 (1H, s, 5-OH), 7.54 (2H, m, H-2', 6'), 6.84 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.34 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-1''), 5.28 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, 2'-OH), 4.38 (1H, s, H-1'''), 0.99 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177.6 (C-4), 164.3 (C-7), 161.4 (C-5), 156.8 (C-2), 156.6 (C-9), 148.5 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.4 (C-3), 121.8 (C-1'), 121.2 (C-6'), 116.4 (C-5'), 115.3 (C-2'), 104.2 (C-10), 101.2 (C-1''), 100.8 (C-1'''), 98.8 (C-6), 93.7 (C-8), 76.6 (C-3''), 76.1 (C-5''), 74.2 (C-2''), 72.0 (C-4'''), 70.7 (C-3'''), 70.5 (C-2'''), 70.1 (C-4''), 68.4 (C-5'''), 67.2 (C-5''), 17.9 (C-6''')。上述数据与文献基本一致^[22-23], 鉴定化合物 **8** 为芦丁。

化合物 **9**: 黄色粉末, mp 314~317 °C, 硅胶板检识, AlCl₃ 显色后加热, 365 nm 显黄色荧光, 提示该物质为黄酮类物质。ESI-MS *m/z* 300.9 [M-H]⁻, 分子式为 C₁₅H₁₀O₇。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.73 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 7.63 (1H, dd, *J* = 8.5, 2.2 Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.39 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 6.18 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 177.2 (C-4), 165.6 (C-7), 162.5 (C-5), 158.1 (C-9), 148.7 (C-2), 148.0 (C-4'), 146.1 (C-3'), 137.1 (C-3), 124.0 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.2 (C-5'), 116.0 (C-10), 104.5 (C-2'), 99.2 (C-8), 94.4 (C-6)。上述数据与文献基本一致^[24-25],

鉴定化合物 **9** 为槲皮素。

化合物 **10**: 白色针晶(甲醇), mp 139~142 °C, 硅胶板检识, 乙醇-浓硫酸显色加热呈紫红色。ESI-MS m/z 397.5 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{50}O$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.35 (1H, s, H-6), 3.52 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 0.85 (3H, d, J = 7.7 Hz, H-29), 0.82 (3H, d, J = 1.9 Hz, H-26), 0.80 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-27), 0.68 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 72.0 (C-3), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 46.0 (C-24), 42.5 (C-4, 13), 39.9 (C-12), 37.4 (C-1), 36.7 (C-10), 36.3 (C-20), 34.1 (C-22), 32.1 (C-7), 31.8 (C-7), 31.7 (C-2), 29.3 (C-25), 28.4 (C-23), 26.3 (C-15), 24.5 (C-16), 23.2 (C-28), 21.2 (C-11), 20.0 (C-26), 19.6 (C-27), 19.2 (C-21), 18.9 (C-19), 12.1 (C-29), 12.0 (C-18)。上述数据与文献基本一致^[26-27], 鉴定化合物 **10** 为 β -谷甾醇。

化合物 **11**: 白色无定形粉末, mp 228 °C, 硅胶板检识, 改良碘化铋钾显黄色斑点, 提示其含 N 原子; 茚三酮乙醇显色呈阳性, 提示该化合物为氨基酸类或肽类化合物。ESI-MS m/z 116.0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_5H_9NO_2$ 。 1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 3.98 (1H, dd, J = 8.8, 6.4 Hz, H-2), 3.38 (1H, m, H-3), 3.24 (1H, m, H-3), 2.30 (1H, m, H-5), 2.11 (1H, m, J = 13.3, 6.3 Hz, H-5), 1.97 (2H, m, H-4); ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) δ : 174.1 (C-1), 62.6 (C-2), 47.0 (C-3), 30.4 (C-5), 25.1 (C-4)。上述数据与文献报道基本一致^[28], 鉴定化合物 **11** 为脯氨酸。

化合物 **12**: 白色针晶(甲醇), mp 197~200 °C, 硅胶板检识, $FeCl_3$ - $K_3[Fe(CN)_6]$ 显色为蓝色, 溴酚蓝显黄色斑点, 提示该化合物为酚酸类物质。ESI-MS m/z 152.9 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_7H_6O_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.41 (2H, m, H-2, 6), 6.78 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5); ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) δ : 170.4 (C-7), 151.7 (C-4), 146.2 (C-3), 124.0 (C-6), 123.3 (C-1), 117.3 (C-2), 115.7 (C-5)。上述数据与文献报道基本一致^[29-30], 鉴定化合物 **12** 为原儿茶酸。

化合物 **13**: 白色结晶(甲醇), mp 240 °C, 硅胶板检识, $AlCl_3$ 显色加热, 365 nm 显黄色荧光, 提示该物质为黄酮类物质。ESI-MS m/z : 291.1 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{14}O_6$ 。 1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 6.98 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, J = 2.7

Hz, H-6'), 6.65 (1H, dd, J = 5.9, 3.5 Hz, H-5'), 5.94 (1H, s, H-8), 5.92 (1H, s, H-6), 4.82 (1H, s, H-2), 4.18 (1H, s, H-3), 2.86 (1H, dd, J = 16.7, 4.6 Hz, H-4a), 2.74 (1H, dd, J = 16.8, 2.8 Hz, H-4b); ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) δ : 158.2 (C-7), 157.8 (C-5), 157.5 (C-9), 146.1 (C-3'), 145.9 (C-4'), 132.4 (C-1'), 121.1 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.4 (C-2'), 100.2 (C-10), 96.5 (C-6), 96.0 (C-8), 80.0 (C-2), 67.6 (C-3), 29.4 (C-4)。上述数据与文献报道基本一致^[31-32], 鉴定化合物 **13** 为表儿茶素。

化合物 **14**: 白色结晶(醋酸乙酯), mp 210 °C, 硅胶板检识, $FeCl_3$ - $K_3[Fe(CN)_6]$ 显色为蓝色, 溴酚蓝显示阳性, 提示该物质为酚酸类物质。ESI-MS m/z 352.9 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$ 。 1H -NMR (400 MHz, MeOD) δ : 7.56 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7), 7.05 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.95 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 6.26 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8), 5.33 (1H, m, H-5'), 4.17 (1H, dd, J = 6.3, 3.3 Hz, H-4'), 3.73 (1H, dd, J = 8.5, 3.2 Hz, H-3'), 2.15 (4H, m, H-2', 6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, MeOD) δ : 177.2 (C-7'), 168.8 (C-9), 149.7 (C-4), 147.2 (C-7), 147.0 (C-3), 127.9 (C-1), 123.1 (C-6), 116.6 (C-5), 115.4 (C-8), 76.3 (C-1'), 73.6 (C-3'), 72.1 (C-4'), 71.4 (C-5'), 38.9 (C-2'), 38.4 (C-6')。上述数据与文献基本一致^[33-34], 鉴定化合物 **14** 为绿原酸。

化合物 **15**: 白色片状晶体(乙醇), mp 300 °C, 硅胶板检识, 改良碘化铋钾显黄色斑点, 提示其含 N 原子; 茚三酮乙醇显色呈阳性, 提示该化合物为氨基酸类化合物。ESI-MS m/z 132.0 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_4H_7NO_4$ 。 1H -NMR (400 MHz, D_2O) δ : 4.08 (1H, dd, J = 6.9, 4.6 Hz, H-2), 3.00 (2H, m, H-3); ^{13}C -NMR (100 MHz, D_2O) δ : 174.3 (C-1), 172.9 (C-4), 50.7 (C-2), 34.6 (C-3)。上述数据与文献报道基本一致^[35], 鉴定化合物 **15** 为天冬氨酸。

化合物 **16**: 白色片状晶体(乙醇), mp 215 °C, 硅胶板检识, 改良碘化铋钾显黄色斑点, 提示其含 N 原子; 茚三酮乙醇显色呈阳性, 提示该化合物为氨基酸类化合物。ESI-MS m/z 147.0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_6H_{14}N_2O_2$ 。 1H -NMR (400 MHz, D_2O) δ : 3.38 (1H, t, J = 6.3 Hz, H-1), 2.95 (2H, m, H-5, 5'), 1.67 (4H, m, H-2, 4, 2', 4'), 1.40 (2H, m, H-3, 3'); ^{13}C -NMR (100 MHz, D_2O) δ : 180.7 (-COOH), 55.3 (C-2), 39.3 (C-6), 32.7 (C-5), 27.0 (C-4), 21.8 (C-3)。

上述数据与文献报道基本一致^[36], 鉴定化合物 16 为赖氨酸。

化合物 17: 白色结晶粉末, mp 94~98 °C, 硅胶板检识, 乙醇-浓硫酸喷雾后加热呈紫红色。ESI-MS m/z 143.0 $[M-H]^-$, 分子式为 $C_{10}H_8O$ 。¹H-NMR (400 MHz, MeOD) δ : 8.23 (1H, m, H-8), 7.72 (1H, dd, $J = 6.2, 3.2$ Hz, H-5), 7.39 (2H, m, H-6, 7), 7.27 (2H, m, H-3, 4), 6.84 (1H, dd, $J = 7.3, 1.1$ Hz, H-2); ¹³C-NMR (100 MHz, MeOD) δ : 154.5 (C-1), 136.4 (C-10), 128.5 (H-5), 127.2 (C-6), 127.1 (C-3), 126.4 (C-7), 125.6 (C-9), 123.2 (C-8), 120.2 (C-4), 109.0 (C-2)。上述数据与文献基本一致^[37], 鉴定化合物 17 为 α -萘酚。

4 讨论

本实验研究了 3 种黄酒的心肌保护作用及 CRW-XY 活性成分。以细胞生存率、LDH 漏出率、MDA、SOD 及 GSH 为指标, 发现白藜芦醇及各给药组均能一定程度升高细胞生存率、降低 LDH 漏出率及 MDA 含量并升高 SOD 及 GSH 含量, 说明 3 种黄酒对 H_2O_2 氧化应激损伤细胞有不同程度的保护作用, 特别是 CRW-XY 在 1.0 mg/mL 下效果最好, 均接近于白藜芦醇。对其活性成分进行了进一步研究, 从中分离得到了 17 个化合物, 主要为酚酸类和黄酮类物质, 鉴于 2 类物质具有很强的抗氧化性^[38], 本研究测定了 3 种黄酒中总酚酸、总黄酮及相关营养成分 γ -氨基丁酸含量, 结果表明 CRW-XY 中 2 类物质含量明显高于其他 2 种黄酒, 与其心肌保护作用最好相印证。

研究表明 CRW-XY 对氧化损伤细胞具有良好的保护作用, 并与黄酒的酵母和原料具有一定相关性, 研究为黄酒质量标准体系建立、CRW-XY 品质进一步提升及黄酒产业健康发展提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 倪莉, 吕旭聪, 黄志清, 等. 黄酒的生理功效及其生理活性物质研究进展 [J]. 中国食品学报, 2012, 12(03): 1-7.
- [2] 韩惠敏, 李新生, 耿敬章, 等. 黄酒酿造原料及生产工艺研究现状与展望 [J]. 生物资源, 2019, 41(1): 87-93.
- [3] Wang Y, Li D X, Shen G S. Inhibitory effects of gamma-aminobutyric acid and diazepam on ventricular arrhythmias induced by hypothalamic electric stimulation [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1989, 10(2): 147-150.
- [4] Wei B, Lin Q, Ji Y G, et al. Luteolin ameliorates rat

- myocardial ischaemia-reperfusion injury through activation of peroxiredoxin II [J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(16): 3315-3332.
- [5] 罗铝铿, 邹浩元, 杨宇辉, 等. 客家黄酒的抗氧化作用研究 [J]. 中国酿造, 2016, 35(8): 61-65.
- [6] 陈林玉, 宋乐园, 王云雨, 等. 红小米化学成分与营养成分分析 [J]. 食品科学, 2021, 42(18): 218-224.
- [7] 张桂芳, 张东杰, 鹿保鑫, 等. 不同萌发时间黑豆芽总黄酮含量及 DPPH 自由基清除能力的测定 [J]. 食品科技, 2020, 45(12): 39-45.
- [8] GB 5009.124-2016 食品中氨基酸的测定 [S]. 2016: 1-4.
- [9] 董丽巍, 王金兰, 赵明, 等. 紫丁香花蕾化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(4): 658-660.
- [10] 王亚男, 卢轩, 孙莎, 等. 海洋真菌 No.Y19-07 菌丝体次级代谢产物化学成分分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26 (9): 704-708.
- [11] 杜伟东, 吴蓓, 李志峰, 等. 小花清风藤化学成分分离与鉴定 (II) [J]. 中草药, 2019, 50(18): 4277-4280.
- [12] Park J, Gim S Y, Jeon J Y, et al. Chemical profiles and antioxidant properties of roasted rice hull extracts in bulk oil and oil-in-water emulsion [J]. *Food Chem*, 2019, 272: 242-250.
- [13] 钱文琪, 吴炜琳, 张勋豪, 等. 满江红全草化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(17): 4397-4404.
- [14] 周媛, 薛艳红, 刘朝霞. 木榄提取物及单体化合物对 SH-SY₅Y 神经细胞抗氧化研究 [J]. 三峡大学学报: 自然科学版, 2016, 38(2): 88-91.
- [15] 米娇, 张龙云, 吴林蔚, 等. 洋河大曲的化学成分 [J]. 应用与环境生物学报, 2016, 22(5): 845-847.
- [16] Tanaka E, Honda Y. Teleomorph-anamorph connection of *Macalpinomyces spermophorus* with *Pseudozyma tsukubaensis* and corresponding erythritol production [J]. *Mycoscience*, 2017, 58(6): 445-451.
- [17] 张树军, 常海波, 吕伟强, 等. 旱柳落叶化学成分研究 [J]. 林产化学与工业, 2013, 33(1): 97-101.
- [18] 陈玩珊, 胡新华, 原文鹏. 酸模叶的化学成分研究 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3769-3771.
- [19] Moresco H H, Colla G, Cavalcante I D, et al. Chemical constituents of *Eugenia catharinae* and their antioxidant activity [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30(22): 2624-2628.
- [20] 李余钊, 文琰章, 杨新洲, 等. 紫茎泽兰醋酸乙酯部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 932-936.
- [21] Panyo J, Matsunami K, Panichayupakaranant P. Bioassay-guided isolation and evaluation of antimicrobial compounds from *Ixora megalophylla* against some oral pathogens [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(9): 1522-1527.
- [22] 赵明, 徐阳宏, 乌兰托娅, 等. 东北岩高兰醋酸乙酯萃

- 取物化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(13): 3399-3405.
- [23] Devkota H P, Adhikari B, Watanabe T, *et al.* Nonvolatile chemical constituents from the leaves of *Ligusticopsis wallichiana* (DC.) pimenov & kljuykov and their free radical-scavenging activity [J]. *J Anal Methods Chem*, 2018, 2018: 1794650.
- [24] 彭谷, 黄娟, 周应军, 等. 水葱化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(19): 4902-4906.
- [25] Lee J S, Kim Y N, Kim N H, *et al.* Identification of hepatoprotective constituents in *Limonium tetragonum* and development of simultaneous analysis method using high-performance liquid chromatography [J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(52): 535-541.
- [26] 肖艳华, 徐卓, 杜治平. 青钱柳化学成分及抗氧化活性研究 [J]. 食品科技, 2019, 44(10): 223-228.
- [27] Li D, Fu D W, Zhang Y, *et al.* Isolation, purification, and identification of taxol and related taxanes from taxol-producing fungus *Aspergillus niger* subsp. *taxi* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, 27(8): 1379-1385.
- [28] McKerrow J D, Al-Rawi J M A, Brooks P. Use of diphenyliodonium bromide in the synthesis of some *N*-phenyl α -amino acids [J]. *Synth Commun*, 2010, 40(8): 1161-1179.
- [29] 成蕾, 陈志有, 尚志梅, 等. 重唇石斛化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(12): 3126-3130.
- [30] Ezzat M I, Ezzat S M, El Deeb K S, *et al.* *In vitro* evaluation of cytotoxic activity of the ethanol extract and isolated compounds from the corms of *Liatris spicata* (L.) Willd on HepG2 [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(11): 1325-1328.
- [31] 董丽华, 朱玉野, 张忠立, 等. 叉分蓼全草化学成分研究 [J]. 中药材, 2019, 42(5): 1059-1061.
- [32] Nam J W, Phansalkar R S, Lankin D C, *et al.* Absolute configuration of native oligomeric proanthocyanidins with dentin biomodification potency [J]. *J Org Chem*, 2017, 82(3): 1316-1329.
- [33] 胡居吾, 吴磊, 涂招秀, 等. 蔓三七叶中分离绿原酸和异绿原酸及其抗氧化活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(1): 38-43.
- [34] Kumar A, Agnihotri V K. Phytochemical studies of *Jurinea macrocephala* roots from Western Himalaya [J]. *Nat Prod Res*, 2020, 34(3): 421-424.
- [35] 胡永美, 汪豪, 叶文才, 等. 繁缕中的水溶性化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(6): 523-525.
- [36] 陈燕燕, 李晓男, 王跃飞, 等. 应用核磁共振指纹谱考察黄芪不同炮制品化学成分的差异 [J]. 中国科技论文, 2014, 9(12): 1410-1413.
- [37] Abdel-Mogib M, Basaif S A. Two new naphthalene and anthraquinone derivatives from *Asphodelus tenuifolius* [J]. *Pharmazie*, 2002, 57(4): 286-287.
- [38] 林亲录, 施兆鹏. 类黄酮与酚酸等天然抗氧化剂的结构与其抗氧化力的关系 [J]. 食品科学, 2001, 22(6): 85-91.

[责任编辑 王文倩]