

大叶铈的酚性成分及其体外抗氧化活性研究

龚宇¹, 罗伟¹, 周蕙祯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, 成都 611137; ²西南民族大学药学院, 成都 610041

摘要: 本文首次对大叶铈 (*Didissandra sesquifolia* C. B. Clarke) 全草的化学成分及其体外抗氧化活性进行了研究, 通过多种色谱和波谱技术, 分离并鉴定了 15 个酚类化合物, 分别为对羟基苯乙醇(1)、香草酸(2)、6-hydroxyluteolin-7-O-glucuronide(3)、stachannin A(4)、野黄芩素(5)、calceolarioside E(6)、verbasoside(7)、calceolarioside A(8)、calceolarioside B(9)、plantainoside A(10)、isonuomioside A(11)、7-O-甲基黄芩素-6-O-葡萄糖苷(12)、鼠李柠檬素-3-O-β-D-葡萄糖苷(13)、1,4-二羟基-2-羟甲基蒽醌(14)和 1,4-二羟基-2-甲基蒽醌(15), 以上所有化合物均为首次从漏斗苣苔属植物中分离得到。此外, 还对大叶铈的化学成分及其各组分的 DPPH、ABTS 自由基清除能力和总还原能力 (FRAP) 进行了初步研究, 结果显示化合物 9、10 的抗氧化活性 ($5.14 \pm 0.36, 5.35 \pm 0.04$ mmol VCE/g) 接近抗坏血酸 (5.68 ± 0.10 mmol VCE/g), 化合物 6~11 的总还原能力均大于 FeSO_4 , 显示出了良好的抗氧化活性, 为其在天然抗氧化剂的开发以及药物先导化合物的筛选上奠定基础。

关键词: 大叶铈; 酚性成分; 分离鉴定; 抗氧化活性

中图分类号: R914.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)3-0420-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.3.010

Study on phenolic constituents and antioxidant activity of *Didissandra sesquifolia* C. B. Clarke

GONG Yu¹, LUO Wei¹, ZHOU Hui-zhen¹, LI Li-mei^{2*}, CHEN Hu-lan^{1*}¹School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Chinese Medicinal Materials Standardization Ministry of Education, Chengdu 611137, China;²School of Pharmacy, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

Abstract: In this study, the chemical constituents and antioxidant activities of *Didissandra sesquifolia* C. B. Clarke were investigated for the first time. A total of 15 phenolic compounds were isolated and identified by a variety of chromatographic and spectroscopic techniques, including 4-hydroxyphenethyl alcohol (1), vanillic acid (2), 6-hydroxyluteolin-7-O-glucuronide (3), stachannin A (4), scutellarein (5), calceolarioside E (6), verbasoside (7), calceolarioside A (8), calceolarioside B (9), plantainoside A (10), isonomioside A (11), scutellarein-6-O-glucoside-7-O-methylester (12), rhamnocitrin-3-O-β-D-glucosid (13), 1,4-dihydroxy-2-hydroxymethyl-9,10-anthraquinone (14) and 1,4-dihydroxy-2-methylanthraquinone (15). All the compounds were isolated from the genus *Didissandra* plant for the first time. The *in vitro* antioxidant activities of the main chemical components and fractions were evaluated by DPPH, ABTS, and FRAP assays. And the results showed that the antioxidant activities of compounds 9, 10 ($5.14 \pm 0.36, 5.35 \pm 0.04$ mmol VCE/g) were close to ascorbic acid (5.68 ± 0.10 mmol VCE/g). In addition, the total reducing ability of compounds 6-11 was higher than that of FeSO_4 , which showed excellent antioxidant activity and laid the foundation for the development of natural antioxidants and the screening of drug lead compounds.

Key words: *Didissandra sesquifolia* C. B. Clarke; chemical constituent; isolation and identification; antioxidant activity

收稿日期: 2019-12-02 接受日期: 2020-04-01

基金项目: 国家自然科学基金(31870341); 四川省青年科技创新研究团队项目(2016TD0006)

* 通信作者 Tel: 86-28-61800231; E-mail: limeili@swun.edu.cn, hlan999@126.com

大叶铈 (*Didissandra sesquifolia* C. B. Clarke) 为苦苣苔科 (Gesneriaceae) 漏斗苣苔属 (*Didissandra*) 多年生草本, 别名大一面铈、白毛草, 主要分布于我国的四川、贵州等西南地区, 常生长在海拔 900 ~

1 600 m 的山坡、路旁及峭壁等地。它是我国民间使用的药用植物,目前多为野生,被收录于《四川中药志》,具有益气补血、补肾固精的作用,主要用于治疗心悸怔忡、神经衰弱、崩漏带下、小便淋沥等疾病^[1]。苦苣苔科植物种类十分丰富,从该科植物如降龙草(*Hemiboea subcapitata* Clarke)、吊石苣苔(*Lysionotus pauciflorus* Maxim)等中发现了黄酮类、苯乙醇苷类、醌类、萜类、酚类糖苷等多种化学成分^[2]。现代药理研究表明其具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗

肿瘤等良好生物活性,且有文献表明苯乙醇苷类化学成分具有神经保护、降低血糖等重要作用^[3,4],从一定程度上说明该科植物是具有潜在生物学活性化合物的重要来源。迄今为止,尚未发现漏斗苣苔属植物的化学成分以及生物活性等方面的相关报道,为了明确漏斗苣苔属植物的化学成分以及生物活性,本研究运用多种色谱技术首次对大叶锣的甲醇及甲醇/水提取物的化学成分进行研究。

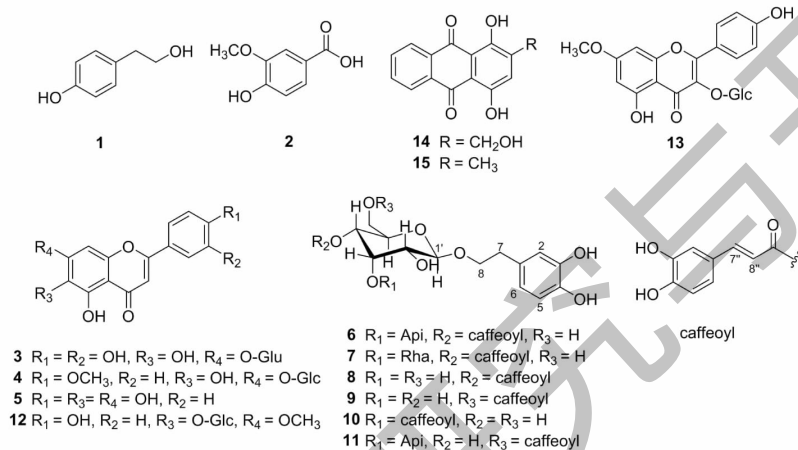


图1 化合物1~15的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-15

1 仪器与材料

1.1 仪器

AVANCE III-400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司);MicrOTOF QII 高分辨质谱仪(德国 Bruker 公司);Varioskan Flash 全波长扫描式多功能读数仪(美国 Thermo 公司);半制备色谱柱(250 mm × 21.2 mm, 10 μm, 苏州纳微生物科技有限公司, 250 mm × 10 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司);半制备液相色谱仪(伍丰 LC-100)。

1.2 药品与试剂

甲醇、乙腈、二氯乙烷、乙酸乙酯、石油醚等有机溶剂(成都科隆化学品有限公司, AR);MeOD, DM-SO-*d*₆ 以及 CDCl₃ 等氘代试剂(美国 Sigma-Aldrich, 99.8% D);柱色谱硅胶(100~200 目和 200~300 目)、薄层板硅胶(254 nm)(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(GE Healthcare Bio-Sciences AB);反相硅胶(苏州纳微生物科技有限公司);DPPH(四川维克奇生物科技有限公司, ≥ 97%);ABTS(上海迈瑞尔化学技术有限公司, 98%);FRAP(北京百灵威科技有限公司, 98.5%)。

1.3 药材

大叶锣植物的全草于 2018 年 7 月采自四川省都江堰市青城山,植物标本经成都中医药大学药学院王光志教授鉴定为苦苣苔科漏斗苣苔属植物大叶锣(*Didissandra sesquifolia* C. B. Clarke)。

2 实验方法

2.1 提取和分离

取干燥大叶锣(全草)粗粉 242.0 g,依次用甲醇(1.5 L)和 70% 甲醇-水(1.3 L),在 60 °C 下提取 3 次,每次 1 h,合并滤液,减压浓缩,得总浸膏 40.2 g(16.6%)。总浸膏用水分散后,进行 MCI 凝胶柱层析,分别以纯水、20% 甲醇-水、40% 甲醇-水、60% 甲醇-水、80% 甲醇-水和纯甲醇进行梯度洗脱,合并得到 6 个组分:纯水(A, 23.9 g)、20% 甲醇-水(B, 3.9 g)、40% 甲醇-水(C, 2.7 g)、60% 甲醇-水(D, 3.1 g)、80% 甲醇-水(E, 3.9 g)和纯甲醇(F, 3.4 g)。

随后,依次将 A、B、C 和 D 四个组分进行 Sephadex LH-20 柱层析($V_{\text{MeOH}}:V_{\text{water}} = 1:1$),经 TLC 检测将点型相似的组分合并,分别从 A 中合并得到了 6

段流分(A1~6),B中得到了5段(B1~5),C中得到了3段(C1~3),D中得到3段(D1~3)。其中,A1段经过Sephadex LH-20($V_{\text{MeOH}}:V_{\text{water}}=1:1$)进一步纯化,得到5个流分A1-1~A1-5,A1-3经半制备液相(20%乙腈-水),分离得到化合物**3**(130.0 mg,24 min)。A2经半制备液相色谱,以25%乙腈-水溶剂洗脱,得化合物**2**(5.1 mg,26 min)。A4经半制备液相(20%乙腈-水)制备,分离得到化合物**1**(15.7 mg,17 min)。B4经半制备型HPLC-YMC色谱,40%甲醇-水为洗脱剂,分离得到化合物**6**(243.8 mg,24 min)和化合物**7**(251.6 mg,27 min)。B5段经过反相柱层析(10%甲醇水→60%甲醇水)得到B5-1~B5-4四个流分,其中B5-3使用半制备型HPLC-YMC(18%乙腈-水)分离,依次得到化合物**8**(150.9 mg,23 min)、**9**(206.0 mg,26 min)、**10**(60.2 mg,19 min)和**11**(100.6 mg,34 min)。C2段经Sephadex LH-20($V_{\text{MeOH}}:V_{\text{water}}=1:1$)纯化得C2-1~C2-4,C2-3通过半制备高效色谱(28%乙腈-水)制备,得化合物**4**(3.2 mg,28 min)。C3经过Sephadex LH-20($V_{\text{MeOH}}:V_{\text{water}}=2:1$)柱色谱纯化,结合半制备高效色谱(39%乙腈-水),分离得到化合物**5**(2.5 mg,17 min)。D2利用半制备型HPLC-YMC(25%乙腈-水)制备,得到化合物**12**(6.0 mg,27 min)。D3经Sephadex LH-20($V_{\text{MeOH}}:V_{\text{water}}=2:1$)纯化得化合物**13**(5.0 mg)。E段组分经硅胶柱层析,使用石油醚-乙酸乙酯(100:1→1:1)梯度洗脱,合并浓缩后得E1~E6,E1经Sephadex LH-20柱($V_{\text{MeOH}}:V_{\text{EDC}}=1:1$)进一步纯化,得化合物**14**(15.4 mg)。F段经过硅胶柱层析(石油醚-乙酸乙酯100:1→1:1)梯度洗脱,得到流分F1~F6,F2经反复结晶得化合物**15**(10.3 mg)。

2.2 体外抗氧化活性测定

2.2.1 DPPH 自由基清除测定

参考 Xiang^[5]的方法对大叶桉浸膏的六个不同极性组分(A~F)和6个含量较高的化学成分(化合物6~11)进行DPPH自由基清除能力的测定。将待测样品用DMSO溶解并稀释至一系列适当的浓度,取20.0 μL 待测液与新鲜制备的DPPH溶液(160.0 μL , 2.0×10^{-4} mol/L)混合,摇匀后避光放置30 min。反应完毕后迅速在全波长扫描式多功能读数仪下于515 nm处读数,使用抗坏血酸作阳性对照,并以不同质量浓度(5.0、20.0、50.0、100.0、150.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)抗坏血酸的吸光度为纵轴,浓度为横

轴绘制标准曲线。结果表示为每克干燥样品的抗坏血酸当量(mmol VCE/g),所有试验均重复三次。

2.2.2 ABTS⁺ 自由基清除测定

ABTS⁺自由基清除能力的测定参照 Apea-Bah^[6]所述的方法进行:将ABTS⁺溶液用无水乙醇适当稀释,使得ABTS⁺储备液在734 nm处的吸光度为0.7左右,然后将待测样品(20.0 μL)加到70.0 μL 的ABTS⁺自由基储备溶液中,室温下反应10 min后在734 nm处读取吸光度。同DPPH测定法一样,以Vc作阳性对照,并绘制标准曲线。自由基清除活性显示为每克干样品的抗坏血酸当量(mmol VCE/g),所有试验均重复三次。

2.2.3 总还原能力测定(FRAP)

根据文献^[7]的方法,我们对各个样品的总还原能力进行了测定。以FeSO₄作为阳性对照,取10.0 μL 待测液与180.0 μL 反应液(TBTZ)混合,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴保持30 min后于593 nm处读数。结果以不同浓度的FeSO₄(50.0、100.0、200.0、300.0、400.0、500.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)做标准曲线,计算每克样品中的FeSO₄当量(mmol FeSO₄/g),所有试验均重复三次。

3 实验结果

3.1 化合物的结构鉴定

化合物1 白色粉末(MeOH);5%硫酸-乙醇显色剂呈红色。¹H NMR(400 MHz,DMSO-*d*₆) δ :6.96(2H,d, $J=8.4$ Hz,H-2,6),6.64(2H,d, $J=8.4$ Hz,H-3,5),3.51(2H,t, $J=7.2$ Hz,H-2'),2.59(2H,t, $J=7.2$ Hz,H-1')。经与文献^[8]比对基本一致,鉴定该化合物为对羟基苯乙醇。

化合物2 白色粉末(MeOH);¹H NMR(400 MHz,DMSO-*d*₆) δ :7.44(1H,d, $J=8.6$ Hz,H-6),7.42(1H,s,H-2),6.85(1H,d, $J=8.6$ Hz,H-5),3.80(3H,s,OCH₃)。经与文献^[9]比对基本一致,鉴定该化合物为香草酸。

化合物3 黄色固体(MeOH);5%硫酸-乙醇显色剂呈黄色。ESI-MS: m/z 478.92 [M-H]⁻; ¹H NMR(400 MHz,DMSO-*d*₆) δ :7.42(1H,d, $J=4.7$ Hz,H-2'),7.35(1H,dd, $J=9.1,4.7$ Hz,H-6'),6.93(1H,s,H-8),6.88(1H,d, $J=9.1$ Hz,H-5'),6.70(1H,s,H-3),5.10(1H,d, $J=6.0$ Hz,H-1''),3.26~3.88(m,Glu-H)。经与文献^[10]比对基本一致,鉴定该化合物为6-hydroxyluteolin-7-O-glucuronide。

化合物4 黄色固体(MeOH);5%硫酸-乙醇显色剂呈黄色。ESI-MS: m/z 463.08 [M+H]⁺,

301.02 [M - Glc + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DM-SO-*d*₆) δ: 8.05 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 7.19 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.96 (1H, s, H-8), 6.83 (1H, s, H-3), 5.03 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, Glc-H-1), 3.92 (3H, s, OCH₃), 3.72 ~ 3.17 (m, Glc-H)。经与文献^[11] 比对基本一致, 鉴定该化合物为 stachanin A。

化合物 5 黄色固体 (MeOH); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈黄色。¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ: 7.89 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.83 (1H, s, H-8), 6.63 (1H, s, H-3)。与文献^[12] 比对基本一致, 鉴定该化合物为野黄芩素。

化合物 6 棕黄色固体 (MeOH-Water); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈红色 → 淡黄绿色。¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ: 7.63 (1H, d, *J* = 14.9 Hz, H-7''), 7.06 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, H-2''), 6.97 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.4 Hz, H-6''), 6.80 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5''), 6.70 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-2), 6.67 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 6.58 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.3 Hz, H-6), 6.26 (1H, d, *J* = 14.9 Hz, H-8''), 5.35 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, Api-H-1), 4.40 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, Glc-H-1), 4.04 (1H, m, H-8), 3.90 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, Api-H-2), 3.42 ~ 3.77 (m, Api/Glc-H), 2.80 (2H, m, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, MeOD) δ: 131.4 (C-1), 114.9 (C-2), 146.1 (C-3), 144.7 (C-4), 116.5 (C-5), 121.2 (C-6), 36.5 (C-7), 72.2 (C-8), 127.6 (C-1''), 115.1 (C-2''), 146.8 (C-3''), 149.7 (C-4''), 117.1 (C-5''), 123.1 (C-6''), 147.7 (C-7''), 116.3 (C-8''), 168.3 (C=O), 104.1 (C-1'), 75.8 (C-2'), 81.4 (C-3'), 70.6 (C-4'), 75.9 (C-5'), 62.3 (C-6'), 111.5 (C-1'''), 78.2 (C-2'''), 80.6 (C-3'''), 75.12 (C-4')。经与文献^[13] 比对基本一致, 鉴定该化合物为 calceolarioside E。

化合物 7 棕黄色固体 (MeOH-Water); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈红色。¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ: 7.48 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7''), 6.93 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2''), 6.83 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6''), 6.66 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5''), 6.57 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2), 6.54 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 6.42 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6), 6.13 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8''), 5.05 (1H, s, Rha-H-1), 4.70 (1H, t, *J* = 9.7 Hz, Glc-H-4), 4.25 (1H, d, *J* = 7.9

Hz, Glc-H-1), 3.80 ~ 3.17 (m, H-8 or Rha/Glc-H), 2.65 (2H, m, H-7), 0.95 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, Rha-CH₃); ¹³C NMR (100 MHz, MeOD) δ: 131.4 (C-1), 117.1 (C-2), 144.6 (C-3), 146.0 (C-4), 116.5 (C-5), 121.3 (C-6), 36.5 (C-7), 72.3 (C-8), 127.6 (C-1''), 115.2 (C-2''), 149.7 (C-3''), 146.8 (C-4''), 116.3 (C-5''), 123.2 (C-6''), 148.0 (C-7''), 114.6 (C-8''), 168.3 (C=O), 104.1 (C-1'), 76.1 (C-2'), 81.7 (C-3'), 70.5 (C-4'), 75.9 (C-5'), 62.3 (C-6'), 103.0 (C-1'), 72.2 (C-2'), 72.0 (C-3'), 73.8 (C-4'), 70.4 (C-5'), 18.4 (C-6')。经与文献^[14] 比对基本一致, 鉴定该化合物为 verbasoside。

化合物 8 深棕绿色固体 (MeOH); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈红色。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.49 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7''), 7.05 (1H, s, H-2''), 6.99 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-6''), 6.75 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-5''), 6.64 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 6.62 (1H, s, H-2), 6.48 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6), 6.23 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8''), 4.63 (1H, t, *J* = 9.4 Hz, Glc-H-4), 4.27 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, Glc-H-1), 3.06 ~ 3.89 (m, H-8/Glc-H), 2.68 (2H, m, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 129.2 (C-1), 116.3 (C-2), 145.5 (C-3), 145.0 (C-4), 114.9 (C-5), 119.6 (C-6), 35.1 (C-7), 70.3 (C-8), 125.5 (C-1''), 115.5 (C-2''), 145.7 (C-3''), 148.6 (C-4''), 115.8 (C-5''), 121.4 (C-6''), 143.6 (C-7''), 113.9 (C-8''), 166.0 (C=O), 102.8 (C-1'), 74.1 (C-2'), 74.7 (C-3'), 71.3 (C-4'), 73.6 (C-5'), 60.9 (C-6')。经与文献^[15] 比对基本一致, 鉴定该化合物为 calceolarioside A。

化合物 9 棕绿色固体 (MeOH); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈红色。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.44 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7''), 7.05 (1H, s, H-2''), 6.96 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6''), 6.74 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5''), 6.60 (1H, s, H-2), 6.57 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5), 6.44 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6), 6.27 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8''), 4.37 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, Glc-6'a), 4.22 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, Glc-H-1), 4.14 (1H, dd, *J* = 11.7, 6.0 Hz, Glc-6'b), 2.97 ~ 3.77 (m, H-8/Glc-H), 2.65 (2H, m, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 129.4 (C-1), 116.1 (C-2), 145.3 (C-3), 143.8 (C-4), 116.6 (C-5), 119.7 (C-6), 35.4 (C-7), 70.5 (C-8), 125.6 (C-1''), 114.0 (C-

2"), 145.9 (C-3"), 148.9 (C-4"), 115.7 (C-5"), 121.7 (C-6"), 145.3 (C-7"), 115.1 (C-8"), 166.8 (C=O), 103.2 (C-1'), 73.6 (C-2'), 76.7 (C-3'), 70.3 (C-4'), 74.0 (C-5'), 63.8 (C-6')。经与文献^[16] 对比基本一致, 鉴定该化合物为 calceolarioside B。

化合物 10 深墨绿色固体 (MeOH); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈红色。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.43 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7"), 7.05 (1H, s, H-2"), 6.98 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6"), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5"), 6.63 (1H, s, H-2), 6.62 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5), 6.47 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-6), 6.24 (1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8"), 4.88 (1H, t, *J* = 9.3 Hz, Glc-H-3), 4.32 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, Glc-H-1), 3.86 ~ 3.77 (m, H-8/Glc-H), 2.65 (2H, m, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 129.2 (C-1), 116.4 (C-2), 145.2 (C-3), 143.6 (C-4), 115.9 (C-5), 119.6 (C-6), 34.7 (C-7), 70.2 (C-8), 125.7 (C-1"), 115.5 (C-2"), 145.7 (C-3"), 148.4 (C-4"), 115.5 (C-5"), 121.3 (C-6"), 144.8 (C-7"), 114.8 (C-8"), 166.2 (C=O), 102.6 (C-1'), 71.5 (C-2'), 77.8 (C-3'), 68.0 (C-4'), 76.7 (C-5'), 60.7 (C-6')。经与文献^[17] 对比基本一致, 鉴定该化合物为 plantainoside A。

化合物 11 棕黄色固体 (MeOH); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈红色→淡黄绿色。¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.44 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-7"), 7.05 (1H, s, H-2"), 6.95 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6"), 6.74 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5"), 6.60 (1H, s, H-2), 6.57 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.44 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 6.27 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-8"), 5.22 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, Api-H-1), 4.35 (1H, d, *J* = 11.3 Hz, Glc-H-1), 4.19 (1H, m, H-8), 3.99 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, Api-H-2), 3.15 ~ 3.88 (m, Api/Glc-H), 2.67 (2H, m, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 129.1 (C-1), 116.3 (C-2), 145.6 (C-3), 143.6 (C-4), 115.5 (C-5), 119.5 (C-6), 34.9 (C-7), 70.4 (C-8), 125.4 (C-1"), 114.9 (C-2"), 145.4 (C-3"), 148.6 (C-4"), 115.8 (C-5"), 121.5 (C-6"), 145.0 (C-7"), 113.8 (C-8"), 166.6 (C=O), 102.8 (C-1'), 73.5 (C-2'), 81.7 (C-3'), 68.5 (C-4'), 73.6 (C-5'), 63.7 (C-6'), 109.2 (C-1'''), 76.0 (C-2'''), 79.1 (C-3'''), 73.3 (C-4'''), 63.0 (C-5''')。经与文献^[18] 对比基本一致, 鉴定该化合物为 isonuomioside A。

化合物 12 黄色固体 (MeOH); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈黄色。ESI-MS: *m/z* 485.09 [M + Na]⁺, 323.15 [M - Glc + Na]⁺, 301.16 [M - Glc + Na]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.97 (H, d, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5'), 6.93 (1H, s, H-8), 6.84 (1H, s, H-3), 5.03 (1H, m, Glc-H-1), 3.90 (3H, s, OCH₃)。与文献^[19] 对比基本一致, 鉴定该化合物为 7-*O*-甲基黄芩素-6-*O*-葡萄糖苷。

化合物 13 黄色固体 (MeOH); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈黄色。ESI-MS: *m/z* 485.12 [M + Na]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.86 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-2', 6'), 6.86 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H-3', 5'), 6.60 (1H, s, H-8), 6.38 (1H, s, H-6), 5.41 (1H, br s, Glc-H-1), 3.83 (3H, s, OCH₃)。与文献^[20] 对比基本一致, 鉴定该化合物为鼠李柠檬素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 14 橙红色晶体 (CHCl₃); 5% 硫酸-乙醇显色剂呈橙红色。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 13.33 (1H, s, 1-OH), 12.94 (1H, s, 4-OH), 8.35 (2H, m, H-6, 7), 7.86 (2H, m, H-5, 8), 7.44 (1H, s, H-3), 4.86 (2H, s, 2-CH₂)。与文献^[21] 对比基本一致, 鉴定该化合物为 1,4-二羟基-2-羟甲基蒽醌。

化合物 15 橙红色晶体 (CHCl₃); 254 nm 处有紫外吸收, 5% 硫酸-乙醇显色剂呈橙红色。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 13.37 (1H, s, 1-OH), 12.99 (1H, s, 4-OH), 8.37 ~ 8.34 (2H, m, H-6, 7), 7.84 ~ 7.82 (2H, m, H-5, 8), 7.18 (1H, q, H-3), 2.38 (3H, d, *J* = 0.7 Hz, CH₃)。与文献^[22] 对比基本一致, 鉴定该化合物为 1,4-二羟基-2-甲基蒽醌。

3.2 体外抗氧化活性的测定

植物能够产生高度多样化的天然抗氧化剂, 这些物质在防止或延缓活性氧和非自由基对脂质、蛋白质和核酸的氧化损伤中起着重要作用, 因此对植物中化合物进行抗氧化活性的测定是非常必要的。本实验测定了大叶罗总浸膏 A~F 六个组分以及化合物 6~11 的体外抗氧化活性, 结果如图 2 所示。每个化合物均表现出一定的抗氧化能力, DPPH 测定的变化范围为 0.02 ~ 0.35 mmol VCE/g, ABTS 为 0.25 ~ 4.28 mmol VCE/g, FRAP 为 0.29 ~ 18.16 mmol FeSO₄/g。

DPPH 自由基抗氧化能力测试结果表明, 化合物 10 (5.35 ± 0.04 mmol VCE/g) 的 DPPH 自由基清

除能力最强,各个化合物 DPPH 自由基清除活性顺序如下:**10** > **9** > **11** > **6** > **7** > **8**。其中化合物 **9** (5.14 ± 0.36 mmol VCE/g) 和 **10** 的 DPPH 自由基清除活性略小于阳性对照组 (5.68 ± 0.10 mmol VCE/g), 并且表现出比酪醇 ($EC_{50} = 11.74$ mg/mL) 更强的抗氧化活性^[23]。化合物 **9** 和 **10** 在 ABTS 自由基清除测定和 FRAP 测定中同样也显示出更高的抗氧化活性,且化合物 **6** ~ **11** 的总还原能力均大于 $FeSO_4$ (6.58 mmol/g), 显示出了良好的抗氧化活性。有文献报道多个酚羟基的出现,尤其是存在邻二羟基构象的排列是具有良好自由基清除活性的重要结构特征^[24]。从大叶锣中分离得到的化合物 **6** ~ **11** 皆

具“邻二羟基构象”的咖啡酸和羟基酪醇片段,进一步证明了该类化合物具有较高体外抗氧化活性的结构基础。

同时,各组分的体外抗氧化活性测定的结果表明, B (3.58 ± 0.00 mmol VCE/g)、C (2.75 ± 0.07 mmol VCE/g) 和 D (3.41 ± 0.01 mmol VCE/g) 组分的 DPPH、ABTS 自由基的清除能力优于其他组分,按以下顺序排列: B > C > D > A > E > F。结合该植物各极性段所含化合物类型情况,具有强抗氧化性的苯乙醇苷类和黄酮类化合物主要来源于 B、C 和 D 这三段,由此可以说明这类化合物的存在是其高抗氧化性的主要贡献者。

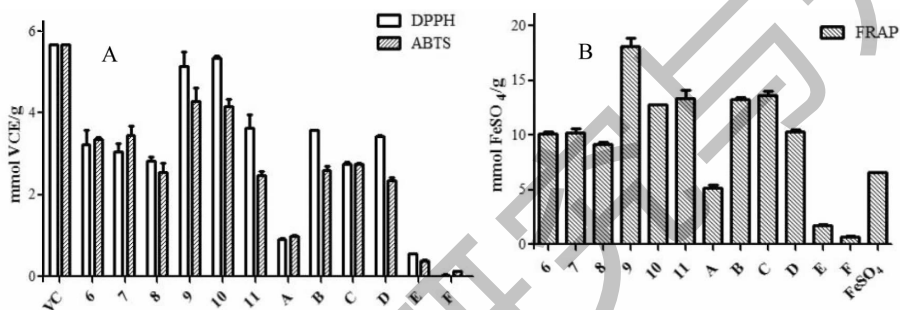


图2 大叶锣化学成分及浸膏的抗氧化活性测定结果

Fig. 2 Antioxidant activity of chemical constituents and different extracts from *D. sesquifolia*

4 结论

本研究从大叶锣植物全草的甲醇以及甲醇-水提取物中共分离鉴定了 15 个化合物,所有化合物均首次从漏斗苣苔属植物中分离得到。结果显示大叶锣的酚性成分主要为苯乙醇苷类和黄酮类化合物,首次揭示了漏斗苣苔属植物成分多样性。此外,体外抗氧化活性研究结果表明,各组分以及主要化合物均具有抗氧化活性。其中苯乙醇苷类化合物 **9** 和 **10** 的抗氧化活性最为优异,为大叶锣提取物的抗氧化活性提供了物质基础。截至目前国内外对大叶锣的研究甚少,本次研究补充了该植物在化学成分以及抗氧化活性方面的知识,为其在天然抗氧化剂的开发以及药物先导化合物的筛选上奠定基础。此外,该研究分析的植物总浸膏量较少,分离鉴定的大多为主要化学成分,对其微量成分的研究有所欠缺,而且生物活性的研究比较单一,仅涉及到体外抗氧化活性。后续研究将会围绕微量成分的分析以及文献提及的神经保护等生物活性开展,试图寻找结构新颖皆具良好生物活性的化合物。

参考文献

- 1 Sichuan Traditional Chinese Medicine Collaborative Writing Group. Sichuan Traditional Chinese Medicine (四川中药志) [M]. Chengdu: Sichuan People's Publishing House, 1979.
- 2 Verdan MH, Stefanello Mé. Secondary metabolites and biological properties of Gesneriaceae species [J]. Chem Biodivers, 2013, 44: 2701-2731.
- 3 Ferrier J, Saleem A, Carter RA, et al. Traditional medicines used by 'eqchi' Maya to treat diabetic symptoms and their antiglycation potential [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 224: 504-511.
- 4 Chen L, Wang JM, Kang WY. Research progress of triterpenoids of Gesneriaceae plants [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2012, 24: 698-701.
- 5 Xiang J, Apea-Bah FB, Ndolo VU, et al. Profile of phenolic compounds and antioxidant activity of finger millet varieties [J]. Food Chem, 2019, 275: 361-368.
- 6 Apea-Bah FB, Minnaar A, Bester MJ, et al. Corrigendum to 'Sorghum-cowpea composite porridge as a functional food, Part II: antioxidant properties as affected by simulated *in vitro* gastrointestinal digestion' [J]. Food Chem, 2016, 197:

- 307-315.
- 7 Wang R, Chen BW, Yang XP, et al. Effects of food matrix on content and antioxidant activity of tea polyphenols during simulated gastrointestinal digestion[J]. J Huazhong Agr Univ (华中农业大学学报), 2017, 36:105-112.
 - 8 Yan XJ, Xiang Z, Wen J, et al. Phenolic acid from the fruits of *Forsythia suspensa*(Thunb.) Vahl[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2017, 52:105-108.
 - 9 Zhang YM, Zhang PZ. Chemical constituents from stem bark of *Pterostyrax psilophyllus*[J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2015, 21(23):58-60.
 - 10 Lu Y, Foo LY. Flavonoid and phenolic glycosides from *Salvia officinalis*[J]. Phytochemistry, 2000, 55:263-267.
 - 11 Tshitenge DT, Ioset KN, Lami JN, et al. Rational quality assessment procedure for less-investigated herbal medicines: case of a Congolese antimalarial drug with an analytical report[J]. Fitoterapia, 2016, 110:189-195.
 - 12 Yan C, Chen XY, Sui H, et al. Antioxidant activities and chemical compositions of *Thymus quinquecostatus* Celak[J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2016, 39:383-389.
 - 13 Nicoletti M, Galeffi C, Multari G, et al. Polar constituents of *Calceolaria ascendens*[J]. Planta Med, 1988:347-348.
 - 14 Kanchanapoom T, Kasai R, Yamasaki K. Phenolic glycosides from *Markhamia stipulata* [J]. Phytochemistry, 2002, 59:557-563.
 - 15 Chen YJ, Zhang HG, Li X. Phenylethanoid glycosides from the bark of *Fraxinus mandshurica* [J]. Chem Nat Compd, 2009, 45:330-332.
 - 16 Liu MT, Wang SJ, Li S, et al. Phenolic and phenylethanoid glycosides from branch of *Fraxinus sieboldiana* [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2010, 35:992-996.
 - 17 Liu DL, Zhang Y, Xu SX, et al. Phenylethanoid glycosides from *Forsythia suspensa* Vahl[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 1998:47-49.
 - 18 Kasai R, Ogawa K, Ohtani K, et al. Phenolic glycosides from Nuo-Mi-Xang-Cao, a Chinese acanthaceous herb [J]. Chem Pharm Bull, 1991, 39:927-929.
 - 19 Du ZL, Wang H, Ye WC, et al. Flavones from flowers of *Sesamum indicum* [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2007(7):603-605.
 - 20 Wu X, Liu YF, Liu YC. Study on chemical constituents of Semen *Astragali complanati*[J]. J Anhui Univ Chin Med(安徽中医药大学学报), 2014, 33(3):91-94.
 - 21 Wang Z, Zhao SM, Zeng GZ, et al. Chemical constituents from roots and rhizomes of *Rubia oncotricha* and their cytotoxic activities [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43:4462-4468.
 - 22 Mal D, Ray S. First synthesis of 9,10-dimethoxy-2-methyl-1,4-antraquinone: a naturally occurring unusual anthraquinone [J]. Eur J Org Chem, 2008:3014-3020.
 - 23 Vlachogianni IC, Fragopoulou E, Kostakis IK, et al. *In vitro* assessment of antioxidant activity of tyrosol, resveratrol and their acetylated derivatives [J]. Food Chem, 2015, 177:165-173.
 - 24 Horvathova E, Mastihubova M, Potocka EK, et al. Comparative study of relationship between structure of phenylethanoid glycopyranosides and their activities using cell-free assays and human cells cultured *in vitro* [J]. Toxicol In Vitro, 2019, 61:104646.
-
- (上接第 488 页)
- 14 Wang YH, Avula B, Abe N, et al. Tandem Mass Spectrometry for structural identification of sesquiterpene Alkaloids from the stems of *Dendrobium nobile* using LC-Q-ToF [J]. Planta Med, 2016, 82:662-670.
 - 15 Li ZJ, Wang YC, Han B, et al. Research on constituents of alkaloids in *Dendrobium* species [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2019, 50:3246-3254.
 - 16 Hedman K, Leander K, Luning B. Studies on orchidaceae alkaloids XXV. *N*-isopentenyl derivatives of dendroxine and 6-hydroxydendroxine from *Dendrobium friedricksianum* and *Dendrobium hildebrandii* [J]. Acta Chem Scand, 1971, 25:717-720.
 - 17 Zhang X, Xu JK, Wang J, et al. Bioactive bibenzyl derivatives and fluorenones from *Dendrobium nobile* [J]. J Nat Prod, 2007, 70(1):24-28.
 - 18 Yan S, Ma RQ, Yang L, et al. Chemical constituents and skin caring activities of *Dendrobium loddigesii* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:615-620.
 - 19 Wang XK, Zhao TF, Wang M. Study on the alkaloids of *Dendrobium nobile* cultivated on eleven woody plants by GC-MS [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 1985, 10:367-371.