

望江南中黄酮成分提取、结构鉴定及抗氧化活性分析

弓迎宾¹,李亚婷²,李石飞^{3*}

(1.山西卫生健康职业学院/山西省中医学校,山西 晋中 030619;

2.山西中医药大学 实验管理中心,山西 晋中 030619;

3.山西大学 分子科学研究所 化学生物学与分子工程教育部重点实验室,山西 太原 030006)

摘要:为了挖掘望江南(*Cassia occidentalis* Linn)中的黄酮类成分,并评价望江南中黄酮成分的抗氧化效果。本文采用凝胶、硅胶柱层析以及半制备高效液相色谱技术对望江南中黄酮类成分进行分离制备,运用质谱(Mass Spectrometry, MS)和核磁共振(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)等波谱技术对黄酮成分进行结构鉴定。从望江南中分离鉴定11个黄酮成分,包括1个黄酮醇和2个查尔酮成分。其中化合物**3**, **4**, **6**, **7**, **8**, **10**和**11**均是首次从该植物中获得,并首次报道了化合物**11**(Robtein)的¹³C-NMR数据。通过清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical, DPPH)自由基法和氧化自由基吸收能力(Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC)法评价了11个黄酮成分的抗氧化能力,结果显示11个黄酮成分均显示出较好的抗氧化能力。以上结果表明黄酮类成分是望江南中一类的重要活性物质。

关键词:望江南;黄酮;抗氧化;Robtein;ORAC法

中图分类号:O436

文献标志码:A

文章编号:0253-2395(2025)05-1009-08

Extraction, Structural Identification, and Antioxidant Activity Analysis of Flavonoids from *Cassia occidentalis* Linn

GONG Yingbin¹, LI Yating², LI Shifei^{3*}

(1. Shanxi Health Vocational College/Shanxi School of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China;

2. Experiment Centre, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China;

3. Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Education Ministry, Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: In order to investigate the flavonoids from *Cassia occidentalis* Linn and evaluate its antioxidant effects, gel, silica gel column chromatography and semi-preparative high performance liquid chromatography were used to prepare flavonoids from *Cassia occidentalis*, and the structure of flavonoids was identified by MS and NMR spectroscopy. Eleven flavonoid constituents including one flavanol compound and two chalcone compounds were isolated from *Cassia occidentalis* by the phytochemical method. Compounds **3**, **4**, **6**, **7**, **8**, **10**, and **11** were obtained from this plant for the first time. The ¹³C-NMR data of **11** (Robtein) is reported for the first time. The antioxidant activity of the eleven flavonoid constituents were tested by the DPPH radical scavenging method and ORAC method. All flavonoid constituents showed strong antioxidant activity. These results displayed that flavonoid constituents are important medicinal ingredients of *Cassia occidentalis* Linn.

Key words: *Cassia occidentalis*; flavonoids; antioxidant; Robtein; ORAC method

收稿日期:2024-07-08;接受日期:2024-11-19

基金项目:山西省自然科学基金(202203021211290;202303021212312;202303021212239)

作者简介:弓迎宾(1984-),女,山西太原人,硕士研究生,研究方向为本草药物传统药性。E-mail:47312185@qq.com

* 通信作者:李石飞(LI Shifei),E-mail:lisf@sxu.edu.cn

引文格式:弓迎宾,李亚婷,李石飞.望江南中黄酮成分提取、结构鉴定及抗氧化活性分析[J].山西大学学报(自然科学版),2025,48(5):1009-1016. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2024166.

0 引言

抗氧化剂(也称自由基清除剂)是一类捕获并清除自由基,可以达到延缓、抑制甚至消除氧化损伤的化学物质。由于自由基具有较强的化学反应活性,容易发生失去或得到电子,进而容易发生氧化-还原反应,最终导致各类疾病发生。近年来,已经证实自由基学说已成为脑缺血、帕金森病、阿尔茨海默病、癌症等众多年龄相关疾病的重要发病机制。因此,发现高效抗氧化剂是应对以上疾病的一种重要手段。相较于合成的抗氧化剂,天然抗氧化剂具有抗氧化能力强、副作用小、可长期食用等特点^[1],如抗坏血酸、维生素E、虾青素等大众熟悉的天然抗氧化剂。此外,从天然产物中发现高活性的抗氧化剂也是一个重要途径,比如芦丁、花青素等天然黄酮类成分均具有高效的抗氧化作用。

望江南(*Cassia occidentalis* Linn)是豆科决明属(*Cassia*)植物,在我国被用作决明子的替代品。该植物原产美洲热带地区,现广布于全世界热带和亚热带地区,我国主要分布于东南部、南部及西南部各省,常生于河边滩地、旷野或丘陵的灌木林或疏林中,也是村边荒地常见植物^[2]。在医药上,常将本植物用作缓泻剂,种子炒后治疟疾;根有利尿功效,鲜叶捣碎后治毒蛇毒虫咬伤。但望江南有微毒,牧畜误食过量可以致死^[3]。国内研究主要集中在栽培、生药和毒性等方面^[4-7],国外的化学成分研究显示望江南中含有蒽醌及其苷、黄酮等物质^[4],但是对于黄酮类成分的抗氧化活性缺乏深入的研究。

为了从望江南中发现高效的抗氧化剂,本文对望江南全草中的黄酮类成分和抗氧化活性进行了研究。通过多种色谱分离技术和波谱学鉴定技术,从望江南中分离鉴定11个黄酮成分,进一步通过清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical, DPPH)自由基法和氧化自由基吸收能力(Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC)法测定11个黄酮成分的抗氧化能力,结果显示11个黄酮成分均显示出了较好的抗氧化能力,望江南有望成为新颖抗氧化剂的发现源泉。

1 实验部分

1.1 仪器和材料

质谱测定仪为Waters 2695 HPLC-Thermo Finnigan LCQ Advantage和API Qstar Pulsar,¹H和¹³C核磁共振(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)波谱测定仪器是布鲁克AM-400或DRX-500核磁共振仪(以四甲基硅烷(Tetramethylsilane, TMS)为内标);柱层析所用耗材硅胶G(200~300目)和硅胶H(10 μm~40 μm),以及TLC(Thin Layer Chromatography)薄层析硅胶板均为青岛海洋化工厂生产;凝胶柱层析填料为Sephadex LH-20(40 μm~70 μm)(瑞典Amersham Pharmacia Biotech AB公司生产);反相柱层析分离材料为C-18(40 μm~63 μm)(德国默克公司生产);高效液相色谱(High performance liquid chromatography, HPLC)仪器型号为Agilent-1100,半制备柱型号为Zobax 9.8 x 250 mm;所有TLC薄层板显色剂为体积分数5%的H₂SO₄乙醇溶液(实验室自制),喷洒后加热显色。清除DPPH自由基实验中所用的紫外仪器为HB.67-UNICO 7200可见分光光度计(美国尤尼柯(上海)仪器有限公司);ORAC活性测试中所用的多效酶标仪为Tecan Infinite M200 Pro多功能酶标仪(上海迪奥生物科技有限公司)。DPPH自由基试剂为1,1-二苯基-2-苦肼基(阿拉丁试剂(上海)有限公司);AAPH(2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochlorid)试剂为偶氮二异丁脒盐酸盐(上海百舜生物科技有限公司);FL(fluorescein)试剂为荧光素钠(天津市凯通化学试剂有限公司);Trolox试剂为水溶性维生素E(北京索莱宝科技有限公司)。

1.2 植物材料

本文中的研究对象望江南全草于2017年11月采自云南西双版纳;由中国科学院昆明植物李顺林研究员鉴定为豆科植物决明属望江南(*Cassia occidentalis* Linn)植物。

1.3 提取分离

采自云南西双版纳的望江南全草晒干后12.0 kg,将粉碎后药材用体积分数95%甲醇加热回流依次提取3次,每次提取时间分别是3 h, 3 h, 2 h;每次提取完成后过滤,然后再加入体积分数95%甲醇提取;最后合并3次的提

取液,然后通过旋转蒸发仪减压浓缩,直到浓缩液中不含甲醇。接下来直接加等量的蒸馏水到浓缩液中,并反复搅拌,使浓缩液处于悬浮状态。萃取过程则是分别用同体积的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行萃取,均萃取3次。其中获得乙酸乙酯萃取物128.0 g;通过100~200目硅胶柱层析划段,用石油醚乙酸乙酯(2:1→1:2)和氯仿甲醇(20:1→1:1)划分10段。Fr-2组分继续通过硅胶柱层析(石油醚:丙酮=2:1)得到化合物10(25.0 mg)和11(15.0 mg)。Fr-3组分经凝胶柱层析(甲醇:水=10:1)得到化合物1(9.0 mg),2(15.0 mg),和3(12.0 mg)。Fr-4经过反相硅胶(甲醇水体系)柱层析进一步划分5个组分Fr-4-1—Fr-4-5。Fr-4-2组分经凝胶柱层析(氯仿:甲醇=1:1)得到化合物4(11.5 mg),5(15.0 mg),和6(18.0 mg)。Fr-4-3组分经半制备液相分离得到化合物7(8.5 mg),8(10.0 mg),和9(10.5 mg)。

1.4 清除DPPH自由基测试

采用实验室之前所建立的方法进行测试^[8],其原理是利用DPPH自由基的自由基与抗氧化剂反应后DPPH自由基的紫外吸收将会随浓度变化,从而测定抗氧化剂的抗氧化能力。方法简述如下:a)DPPH自由基溶液的制备:精密称取一定量的DPPH自由基于棕色容量瓶中,然后加入无水乙醇,超声溶解后,并继续加入无水乙醇定容到刻度,确保所配置的DPPH自由基溶液浓度为0.1 mmol/L。该储备液配置好后,置于-20℃冰箱存放,备用。b)化合物的DPPH自由基清除率的测定:首先精密称取各化合物一定重量,用体积分数50%乙醇配成浓度为1.0 mg/mL的原液;然后依次取不同体积的原液,再用体积分数50%乙醇稀释至所要测定的浓度,所用到容量瓶体积为10 mL,所稀释后的样品溶液即为待测液。接下来是样品测定,取4 mL各种待测液于棕色瓶中,同时加入同体积的DPPH自由基储备液,混匀后在黑暗条件下反应30 min;反应结束后用酶标仪在517 nm波长处测定吸光度值。最后化合物DPPH自由基清除率的计算公式为:清除率(%)=100×[1-(A_i-A_j)/(A₀-A_b)],其中A_i为化合物的测定值,A_j为化合物+无水乙醇吸

光度(无DPPH自由基)的测定值,A₀为化合物+体积分数50%乙醇的测定值(即为化合物本身吸光度值),A_b为无水乙醇+体积分数50%乙醇的测定值(即为溶剂对照吸光度值)。

1.5 ORAC活性测试

采用实验室之前所建立的方法进行测试^[9],其原理是利用含氧自由基的物质(如APPH)与特定的荧光探针反应后,可形成稳定物质,可利用荧光吸收测定该含氧自由基物质浓度,便可用此检测抗氧化剂与含该氧自由基物质的反应能力。方法简述如下:a)化合物待测溶液制备:精密称取一定量的各化合物重量,用磷酸缓冲溶液配置成1.0 mg/mL的样品原液;然后再用磷酸缓冲溶液将各样品稀释成20 μg/mL、30 μg/mL、40 μg/mL的待测溶液,用于下一步的测定。b)96孔板法来测定化合物的ORAC值:用移液枪精密移取20 μL的测样品溶液于96孔板中,然后再加入缓冲溶液和FL各20 μL,并在37℃下孵育15 min。孵育结束后,迅速加入140 μL AAPH开始反应,反应开始后在多效酶标仪中测定荧光强度,测定时设置的样板温度为37℃下,其中激发波长为485 nm,发射波长为538 nm,测得时间设置为2 min,即每2 min测定一次荧光强度,总反应时间为100 min。最后测定不同时间点的绝对荧光强度需要与最初的荧光强度相比较,得为相对荧光强度*f*,并以*f*来计算荧光衰退曲线下面积(AUC),计算公式为S_{AUC}=2×(f₀+f₁+…+f_{n-1}+f_n)-f₀-f_n,其中f_n为第*n*个测定点的相对荧光强度,Δ*t*标示相邻两个时间点的的时间间隔。化合物最终的ORAC测定结果用ORAC值表示,其计算方法如下:

$$\text{ORAC 值}^{[10-11]} = \frac{(S_{\text{AUC 样品}} - S_{\text{AUC 空白}})}{(S_{\text{AUC Trolox}} - S_{\text{AUC 空白}})}$$

(Trolox 摩尔浓度/样品摩尔浓度)。

2 实验结果

2.1 化合物结构鉴定

通过硅胶、凝胶柱层析以及HPLC半制备技术,本文从望江南中分离得到11个化合物,经与已知化合物的NMR数据比较,11个化合物的结构鉴定如图1所示。

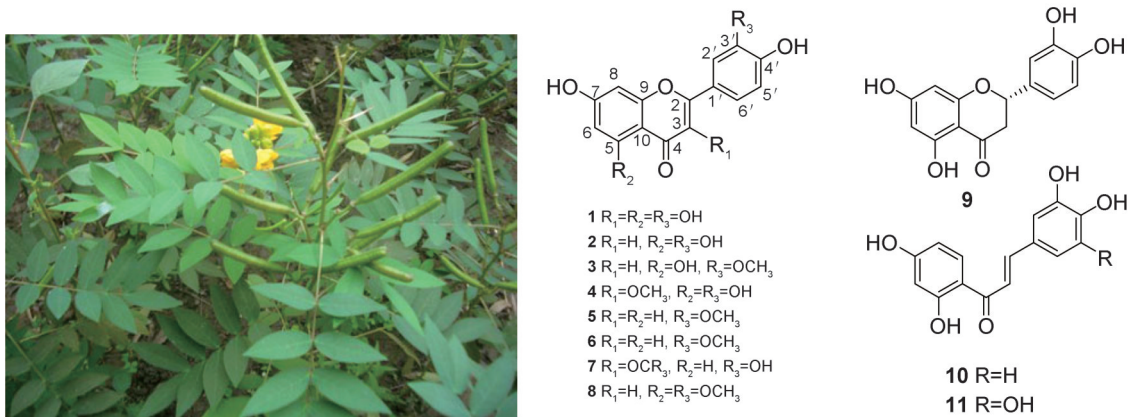


图1 望江南(左)中分离鉴定11个黄酮结构图

Fig. 1 The structures of 11 flavonoids from *Cassia occidentalis*

化合物1:黄色粉末,电喷雾质谱法(Electrospray Ionization Mass Spectrometry, ESIMS) (m/z): 303 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_7$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 6.17 (1H, br s, H-6), 6.40 (1H, br s, H-8), 6.87 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.52 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 7.65 (1H, br s, H-2')。 ^{13}C -NMR 数据见表1。经检索和比较后,化合物1的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[12],故鉴定其结构为槲皮素(Quercetin)。

化合物2:黄色颗粒状结晶(甲醇), ESIMS (m/z): 287 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_6$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ_H : 6.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.43 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.66 (1H, s, H-3), 6.87 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.40 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6')。 ^{13}C -NMR 数据见表1。经检索和比较后,化合物2的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[13],故鉴定其结构为木犀草素(Luteolin)。

化合物3:黄色粉末, ESIMS (m/z): 301 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_6$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ_H : 3.88 (3H, s, H-3-OMe), 6.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.50 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.89 (1H, s, H-3), 6.92 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.55 (2H, br d, H-2', 6')。 ^{13}C -NMR 数据见表1。经检索和比较后,化合物3的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[14],故鉴定其结构为柯伊利素(Chrysoeriol)。

化合物4:黄色粉末, ESIMS (m/z): 317 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_7$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 6.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.39 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.91 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.43 (1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 3.76 (3H, s, 3-OCH₃)。 ^{13}C -NMR 数据见表2。经检索和比较后,化合物4的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[15],故鉴定其结构为3-甲氧基槲皮素(Kaempferide)。

化合物5:淡黄色粉末, ESIMS (m/z): 285 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_5$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 3.88 (3H, s, H-4'-OMe), 6.83 (1H, s, H-3), 6.91 (2H, m, H-6, 2'), 6.99 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 7.53 (2H, dt, $J = 2.0, 4.0, 6.0$ Hz, H-5, 6'), 7.85 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5')。 ^{13}C -NMR 数据见表2。经检索和比较后,化合物5的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[16],故鉴定其结构为7, 3'-二羟基-4'-甲氧基黄酮(7, 3'-Dihydroxy-4'-methoxyflavone)。

化合物6:深黄色结晶(乙醇), ESIMS (m/z): 271 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_5$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 6.66 (1H, s, H-3), 6.88 (1H, m, H-6), 6.90 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.92 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.37 (2H, m, H-5', 6'), 7.84 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5)。 ^{13}C -NMR 数据见表2。经检索和比较后,化合物6的核磁数据与文献中

报道的核磁数据基本一致^[17],故鉴定其结构为7, 3', 4'-三羟基黄酮(7, 3', 4'-Trihydroxyflavone)。

化合物7:黄色粉末, ESIMS (m/z): 301 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_6$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 6.88 (3H, m), 7.42 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.88 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5')。 ^{13}C -NMR 数据见表2。经检索和比较后, 化合物7的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[18], 故鉴定其结构为3-甲氧基-7, 3', 4'-三羟基黄酮(3-Methoxy-7, 3', 4'-trihydroxyflavone)。

化合物8:淡黄色粉末, ESIMS (m/z): 315 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{17}H_{14}O_6$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 3.78 (3H, s, -OMe), 3.86 (3H, s, -OMe), 6.35 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.54 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.62 (1H, s, H-3), 6.90 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-5'), 7.45 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.46 (1H, br s, H-6')。 ^{13}C -NMR 数据见表2。经检索和比较后, 化合物8的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[19], 故鉴定其结构为毛地黄黄酮-5, 3'-二甲酯(Chrysoeriol 5-

methyl ether)。

化合物9:淡黄色粉末, ESIMS (m/z): 289 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_6$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 2.72 (1H, dd, $J = 17.0, 3.0$ Hz, H-3a), 3.15 (1H, dd, $J = 17.0, 12.0$ Hz, H-3b), 5.40 (1H, dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, H-2), 5.94 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.96 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.87 (2H, t, $J = 7.2, 9.6$ Hz, H-5', 6'), 7.04 (1H, s, H-2')。 ^{13}C -NMR 数据见表2。经检索和比较后, 化合物9的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[20], 故鉴定其结构为北美圣草素(Eriodictyol)。

化合物10:橘黄色粉末, ESIMS (m/z): 273 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_5$; 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_H : 6.35 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 6.46 (1H, dd, $J = 8.8, 2.4$ Hz, H-6), 6.90 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6'), 7.22 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-5'), 7.35 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.89 (2H, m, H-7, 8), 8.11 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5)。 ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ_C : 128.1 (C-1), 116.3 (C-2), 146.3 (C-3), 149.2 (C-4), 115.9 (C-5), 123.4 (C-6), 145.5 (C-7),

表1 化合物1-9的 ^{13}C -NMR数据

Table 1 ^{13}C -NMR data for compounds 1-9 (100 MHz in DMSO)

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9 ^{a)}
2	146.9	164.2	163.8	155.6	162.4	162.6	154.6	160.6	79.9
3	135.9	102.9	103.3	137.7	104.8	104.5	139.4	106.4	43.5
4	176.0	181.6	181.9	177.9	176.4	176.3	173.1	175.8	197.2
5	160.8	161.5	161.5	161.3	126.5	126.6	126.6	159.8	165.2
6	98.3	98.8	98.9	98.6	115.7	116.0	114.9	96.5	96.7
7	164.0	163.9	164.3	164.2	162.6	162.7	162.6	162.4	167.3
8	93.5	93.9	94.2	93.6	102.6	102.4	102.0	95.3	95.8
9	156.3	157.3	157.4	156.4	157.4	157.4	156.4	159.1	164.3
10	103.1	103.7	103.8	104.2	116.1	116.1	116.3	107.2	103.2
1'	122.1	121.5	121.6	120.8	122.1	122.2	121.4	121.9	131.5
2'	115.1	113.4	110.2	115.4	109.9	113.2	115.4	109.7	114.7
3'	145.2	145.7	150.8	148.8	150.2	149.2	148.3	149.9	146.0
4'	147.8	149.7	148.1	145.3	148.0	145.7	145.2	148.0	146.4
5'	115.7	116.0	115.8	115.8	114.7	114.8	115.7	115.7	116.0
6'	120.1	119.0	120.5	120.6	119.9	118.6	120.4	119.6	119.2
-OMe			56.0	59.7	55.9		59.4	55.8	
-OMe								55.9	

注:a) 溶解于 CD_3COCD_3 中, 空白处表示该化合物没有此基因。

118.2 (C-8), 192.7 (C-9), 114.4 (C-1'), 165.5 (C-2'), 103.7 (C-3'), 167.5 (C-4'), 108.6 (C-5'), 133.2 (C-6')。经检索和比较后,化合物 10 的核磁数据与文献中报道的核磁数据基本一致^[21],故鉴定其结构为紫柳查耳酮(2',3,4',4-Tetrahydrochalcone)。

化合物 11: 橘黄色粉末, ESIMS (m/z): 311 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_6$; 1H -NMR (CD_3COCD_3 , 500 MHz) δ_H : 6.26 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3'), 6.38 (1H, dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, H-5'), 6.80 (2H, s, H-2, 6), 7.56 (2H, s, H-7, 8), 8.09 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6'), 13.57 (1H, s, H-2' OH)。以上数据与文献报道一致^[22]。 ^{13}C -NMR (CD_3COCD_3 , 125 MHz) δ_C : 125.1 (C-1), 108.7 (C-2), 146.2 (C-3), 147.2 (C-4), 146.2 (C-5), 108.7 (C-6), 145.2 (C-7), 117.4 (C-8), 191.4 (C-9), 113.1 (C-1'), 164.9 (C-2'), 102.6 (C-3'), 165.8 (C-4'), 108.2 (C-5'), 132.8 (C-6')。 ^{13}C -NMR 数据为首次报道,故鉴定化合物 11 为刺槐查耳酮(Robtein)。

2.2 抗氧化活性结果

通过清除 DPPH 自由基法和 ORAC 法评价 11 个黄酮成分的抗氧化能力,结果见表 2。从表中可以发现 11 个化合物均显示出较强的清除自由基(半数清除率在 $1.2 \mu g/mL \sim 30.5 \mu g/mL$ 之间)和较强的抗氧化能力(ORAC 的平均值在 $1\ 258 \mu mol \sim 1\ 861 \mu mol TE/g$ 之间),其中化合物 1、2、4 和 10 的抗氧化活性最好。

表 2 化合物 1—11 的抗氧化活性测定结果

Table 2 The data of antioxidant activity of compounds 1—11

化合物	DPPH 自由基 (IC_{50} , $\mu g/mL$)	抗氧化(ORAC)的平均值 ($\mu mol TE/g$)
1	1.2 ± 0.3	1861 ± 57
2	7.6 ± 1.1	1645 ± 34
3	19.4 ± 2.6	1746 ± 43
4	8.1 ± 1.2	1589 ± 31
5	15.1 ± 2.6	1258 ± 78
6	9.5 ± 1.3	1568 ± 35
7	9.1 ± 1.4	1623 ± 23
8	18.3 ± 2.5	1436 ± 57
9	30.5 ± 2.6	1263 ± 63
10	7.9 ± 1.2	1825 ± 36
11	10.2 ± 2.1	1786 ± 24

3 分析与讨论

由于自由基具有高度的化学反应活性,容易发生失去或得到电子的氧化-还原反应,特别是当机体处于应激状态下,机体内的自由基促使机体内众多重要生物大分子如 DNA、蛋白质等发生变化,从而引起细胞结构和功能的破坏,导致产生多种疾病。因此,清除体内自由基,寻找抗氧化剂是衰老、脑缺血、帕金森病、阿尔茨海默病、癌症等众多疾病治疗的一种有效措施,尤其是天然的抗氧化剂。天然黄酮类成分是一类重要的抗氧化物质,诸如花青素、虾青素、芦丁等成分均已被验证具有多样抗氧化能力,富含这类成分的食品均被认为是一种天然的抗氧化剂,可以改善众多疾病症状。

本研究从望江南中分离鉴定 11 个黄酮类成分,通过清除 DPPH 自由基法和 ORAC 法评价 11 个黄酮成分的抗氧化能力,结果显示这些成分均具有抗氧化作用。详细分析 11 个黄酮成分抗氧化能力与结构关系后,可以发现化合物 9 的抗氧化能力较弱,化合物 1、2、4 和 10 的抗氧化活性最好。这表明黄酮结构中黄酮较二氢黄酮的抗氧化能力强。此外,酚羟基的数目与化合物的抗氧化能力有直接关系,即酚羟基数目较多的成分,其抗氧化能力较强。11 个黄酮中抗氧化能力最好的成分是槲皮素和木犀草素,已有研究表明槲皮素和木犀草素可以通过多种途径在体内外显示出抗氧化作用^[23-24],这两个成分已展现出成为天然抗氧化剂的前景,或许可用于脑缺血、帕金森病等疾病防治。

4 结论

望江南中存在丰富的黄酮类成分,且这类成分均具有较好的抗氧化能力,这表明望江南可以作为天然抗氧化剂使用,本研究为望江南下一步黄酮类成分开发提供了基础。同时未对 11 个黄酮成分开展体内的抗氧化作用和机制研究是本论文的不足之处,后续应该对这 11 个成分深入开展抗氧化研究。此外,本文主要是对乙酸乙酯部位开展研究,未对其他部位开展研究,下一步应该继续对其他部分开展化学成分研究,有望从望江南中发现更多的抗氧化成分。

参考文献:

- [1] VIRENDRA S A, SAHU C, KUMAR A, *et al.* Natural Antioxidants as Additional Weapons in the Fight Against Malarial Parasite[J]. *Curr Top Med Chem*, 2022, **22**(24): 2045–2067. DOI: 10.2174/1568026622666220504172655.
- [2] WE T L, CHEN P Y, WEI C F, *et al.* Flora Reipublicae Popularis Sinicae' Wu Z Y. (Ed.) [M]. Beijing: Science Press; 1988, **39**: 125.
- [3] 冯朝霞. 望江南中毒3例[J]. 实用医学杂志, 1994, **10** (1): 4–6.
- [4] 张再, 倪绍伟, 徐雪, 等. 望江南的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2021, **46**(15): 3873–3876. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20210427.201.
- ZHANG Z, NI S W, XU X, *et al.* Chemical Constituents of *Cassia occidentalis*[J]. *China J Chin Mater Med*, 2021, **46**(15): 3873–3876. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20210427.201.
- [5] LUM NDE A, CHUKWUMA C I, ERUKAINURE O L, *et al.* Ethnobotanical, Phytochemical, Toxicology and Anti-diabetic Potential of *Senna occidentalis* (L.) Link; A Review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, **283**: 114663. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114663.
- [6] 朱伊婧, 李佳蓉, 闫翠香, 等. 望江南的活性成分、功能特性及开发利用[J]. 特种经济动植物, 2023, **26**(7): 98–104. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4713.2023.07.036.
- ZHU Y J, LI J R, YAN C X, *et al.* Active Components, Functional Characteristics and Development and Utilization of Wangjiangnan[J]. *Spec Econ Anim Plants*, 2023, **26**(7): 98–104. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4713.2023.07.036.
- [7] 曾斐, 李晓飞, 黄玉珊, 等. 望江南蒽醌类成分的提取及抗肝癌活性研究[J]. 中华中医药学刊, 2016, **34**(9): 2231–2235. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2016.09.053.
- ZENG F, LI X F, HUANG Y S, *et al.* Extraction of Anthraquinones in *Cassia occidentalis*L. and Its Intervention Activity of Liver Cancer[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2016, **34**(9): 2231–2235. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2016.09.053.
- [8] 程启斌, 李石飞, 张立伟. 连翘不同部位总酚含量测定及抗氧化活性比较研究[J]. 化学研究与应用, 2016, **28**(5): 610–616. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1656.2016.05.008.
- CHENG Q B, LI S F, ZHANG L W. Study on Comparison of Antioxidant Activity and Determination of Total Phenol Content in Different Parts of *Forsythia suspensa*[J]. *Chem Res Appl*, 2016, **28**(5): 610–616. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1656.2016.05.008.
- [9] 马丽莎, 贾金萍, 张元波, 等. 连翘不同部位生物活性比较研究[J]. 化学研究与应用, 2018, **30**(2): 177–182. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1656.2018.02.001.
- MA L S, JIA J P, ZHANG Y B, *et al.* Comparative Study on Biological Activity of Different Parts of *Forsythia suspensa*[J]. *Chem Res Appl*, 2018, **30**(2): 177–182. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1656.2018.02.001.
- [10] 续洁琨, 姚新生, 栗原博. 抗氧化能力指数(ORAC)测定原理及应用[J]. 中国药理学通报, 2006, **22**(8): 1015–1021. DOI: 10.3321/j.issn: 1001-1978.2006.08.029.
- XU J K, YAO X S, LI Y B. Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay and Its Application[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2006, **22**(8): 1015–1021. DOI: 10.3321/j.issn: 1001-1978.2006.08.029.
- [11] CAO G, ALESSIO H M, CUTLER R G. Oxygen-radical Absorbance Capacity Assay for Antioxidants[J]. *Free Radic Biol Med*, 1993, **14**(3): 303–311. DOI: 10.1016/0891-5849(93)90027-r.
- [12] 王介华, 张文华, 肖强, 等. 长管红山茶茶叶片的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2023, **35**(2): 236–241. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.2.007.
- WANG J H, ZHANG W H, XIAO Q, *et al.* Chemical Constituents from Leaves of *Camellia longituba* Chang [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2023, **35**(2): 236–241. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.2.007.
- [13] 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. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.008.
- PENG G, HUANG J, ZHOU Y J, *et al.* Chemical Constituents of *Schoenoplectus tabernaemontani*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2020, **51**(19): 4902–4906. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.008.
- [14] 乔灏祎, 叶贤胜, 赫军, 等. 山茱萸中一个新的环烯醚萜苷类化合物[J]. 中国药理学杂志, 2017, **52**(14): 1212–1216. DOI: 10.11669/cpj.2017.14.004.
- QIAO H Y, YE X S, HE J, *et al.* A New Iridoid Glucoside from the Ripe Fruits of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc[J]. *Chin Pharm J*, 2017, **52**(14): 1212–1216. DOI: 10.11669/cpj.2017.14.004.
- [15] 段绪红, 张学文, 秦梦, 等. 东亚小金发藓化学成分研究[J]. 中草药, 2020, **51**(15): 3863–3868. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.004.
- DUAN X H, ZHANG X W, QIN M, *et al.* Chemical Constituents from *Pogonatum inflexum*[J]. *Acupunct Res*, 2020, **51**(15): 3863–3868. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.15.004.
- [16] 朱鸿, 张再, 徐雪, 等. 光叶决明化学成分的研究[J]. 中药材, 2020, **43**(8): 1886–1889.
- ZHU H, ZHANG Z, XU X, *et al.* Chemical Constituents of *Cassia floribunda*[J]. *J Chin Med Mater*, 2020, **43**(8): 1886–1889. DOI: 10.13863/j.issn100174454.2020.08.016.

- DOI: 10.13863/j.issn1001?4454.2020.08.016.
- [17] 张蒙, 许琼明, 王桃云, 等. 大豆荚的化学成分研究[J]. 中草药, 2015, **46**(3): 344–347. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.03.007.
ZHANG M, XU Q M, WANG T Y, *et al.* Chemical Constituents from Pods of *Glycine Max*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2015, **46**(3): 344–347. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.03.007.
- [18] XIAN M L, OH M, KWAK H J, *et al.* Chemical Constituents from the Stem Bark of *Albizia julibrissin* and Their SREBP-1c Inhibitory Activity[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2023, **25**(9): 912–917. DOI: 10.1080/10286020.2022.2163633.
- [19] 马瑞婧, 杨巡纭, 王吉华, 等. 喙荚云实酚性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013, **38**(7): 1014–1017. DOI: 10.4268/cjcmm20130717.
MA R J, YANG X Y, WANG J H, *et al.* Phenolic Compounds from *Caesalpinia minax*[J]. *China J Chin Mater Med*, 2013, **38**(7): 1014–1017. DOI: 10.4268/cjcmm20130717.
- [20] 闫建昆, 张翔宇, 石旭柳, 等. 杜仲叶中黄酮类化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2021, **23**(4): 599–604. DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.20201006003.
YAN J K, ZHANG X Y, SHI X L, *et al.* Study on Flavonoids from Leaves of *Eucommia ulmoides*[J]. *Mod Chin Med*, 2021, **23**(4): 599–604. DOI: 10.13313/j.issn.1673-4890.20201006003.
- [21] 刘金俊, 杨印军, 朱寅荻, 等. 两色金鸡菊中1个新的没药烷型倍半萜类化合物[J]. 中国中药杂志, 2015, **40**(11): 2132–2137. DOI: 10.4268/cjcmm20151113.
LIU J J, YANG Y J, ZHU Y D, *et al.* A New Bisabolane-type Sesquiterpenoid from *Coreopsis tinctoria*[J]. *China J Chin Mater Med*, 2015, **40**(11): 2132–2137. DOI: 10.4268/cjcmm20151113.
- [22] KUBOTA T, HASE T. The Constituents of the Heartwood of *Robinia pseudoacacia*[J]. *Nippon Kagaku Zasshi*, 1966, **87**(11): 1201–1205. DOI: 10.1246/nikkashi1948.87.11_1201.
- [23] 王亚茹, 袁满, 张丽, 等. 槲皮素抗氧化作用及相关机制研究进展[J]. 营养学报, 2022, **44**(2): 204–208.
WANG Y R, YUAN M, ZHANG L, *et al.* Research Progress on Antioxidant Actions and Related Mechanisms of Quercetin[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2022, **44**(2): 204–208. DOI:10.3969/j.issn.0512-7955.2022.02.017.
- [24] 吕畅, 王红芳, 阎雪莹. 木犀草素抗氧化作用研究进展[J]. 黑龙江医药, 2015, **28**(5): 1019–1021. DOI: 10.14035/j.cnki.hljyy.2015.05.004.
LÜ/LV/LU/LYU) C, WANG H F, YAN X Y. Advances in Research on Anti-oxidation of Luteolin[J]. *Heilongjiang Med J*, 2015, **28**(5): 1019–1021. DOI: 10.14035/j.cnki.hljyy.2015.05.004.