

# 三华李叶抗氧化活性物质的分离鉴定

海金萍<sup>1</sup>, 赵谋明<sup>2</sup>, 林恋竹<sup>2</sup>, 董怡<sup>2</sup>

(1. 广东石油化工学院环境与生物工程学院, 广东茂名 525000)

(2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 对比研究了三华李果肉、果核及叶乙醇提取物的总酚、总黄酮含量及其抗氧化活性。三华李叶提取物总酚、总黄酮含量最高, 分别为 14.75 g 没食子酸当量/100 g 提取物和 5.45 g 儿茶素当量/100 g 提取物, 且三华李叶具有最强的 DPPH 自由基清除能力 (IC<sub>50</sub> 值为 79.75 μg/mL) 及氧自由基吸收能力 (ORAC 值为 6521.74 μmol trolox equiv/g)。采用柱层析法, 从三华李叶中分离得到三个黄酮类化合物, 通过核磁共振法 (NMR) 及电喷雾质谱法 (ESI-MS), 鉴定为山柰酚-3,7-二-O-α-L-鼠李糖苷, 山柰酚-3-O-α-L-鼠李糖苷以及山柰酚-7-O-α-L-鼠李糖苷, 三个化合物均为首次从三华李叶中分离得到。其中, 山柰酚-7-O-α-L-鼠李糖苷具有最强的 DPPH 自由基清除能力 (IC<sub>50</sub> 为 12.93 μg/mL) 及氧自由基吸收能力 (ORAC, 8.83 μmol trolox equiv/μmol)。山柰酚-3,7-二-O-α-L-鼠李糖苷是三华李叶中含量最多的化合物。因此, 三华李叶可作为有效的抗氧化剂用于保健食品。

**关键词:** 三华李; 抗氧化; 山柰酚

文章编号: 1673-9078(2015)12-106-110

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.016

## Isolation and Identification of Bioactive Compounds with Antioxidant Activities from Sanhua Plum (*Prunus salicina* Lindl.)

HAI Jin-ping<sup>1</sup>, ZHAO Mou-ming<sup>2</sup>, LIN Lian-zhu<sup>2</sup>, DONG Yi<sup>2</sup>

(1. Faculty of Environmental & Biological Engineering, Guangdong University of Petrochemical Technology, Maoming 525000, China) (2. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The total phenol and flavonoid content as well as the antioxidant activities of extracts from the fruit pulp, pit, and leaf of Sanhua plum (*Prunus salicina* Lindl.) were comparatively studied. The plum leaf extract had the highest total phenolic content (14.75 g gallic acid equiv/100 g extract) and total flavonoid content (5.45 g catechin equiv/100 g extract), and possessed the strongest 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) radical scavenging activity (half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) value = 79.75 μg/mL) and oxygen radical absorbance capacity (6521.74 μmol trolox equiv/g). Using column chromatography, three flavonoids were separated from Sanhua plum leaves for the first time; they were identified as kaempferol-3,7-O-α-L-dirhamnoside, kaempferol-3-O-α-L-rhamnoside, and kaempferol-7-O-α-L-rhamnoside by nuclear magnetic resonance (NMR) and electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS). Among them, kaempferol-7-O-α-L-rhamnoside possessed the strongest DPPH• radical scavenging activity (IC<sub>50</sub> value = 12.93 μg/mL) and oxygen radical absorbance capacity (8.83 μmol trolox equiv/μmol). The compound with the highest content in the plum leaf extract was kaempferol-3,7-O-α-L-dirhamnoside (6.40 g/100 g extract). Therefore, plum leaf extract can be an effective antioxidant for use in health care products.

**Key words:** Sanhua plum; antioxidant; kaempferol

植物多酚广泛分布于蔬菜、水果以及谷物中, 是植物体内最重要的次生代谢产物之一。迄今为止, 已有 8000 多种植物多酚被分离和鉴定出来。多酚按结

收稿日期: 2015-03-11

基金项目: “十二五” 国家科技支撑计划项目 (2012BAD37B08-01); 广东省科技计划项目 (2013B020311021)

作者简介: 海金萍 (1965-), 女, 副教授, 主要从事农产品加工与贮藏方面的研究

通讯作者: 林恋竹 (1985-), 女, 博士, 助理研究员, 主要从事食品生物技术方面的研究

构, 可以分为常见的酚酸类、黄酮类以及不太常见的芪类、木脂素类。植物多酚具有多种的生理活性, 包括抗氧化、抗炎、抗溃疡、抗过敏、抑菌、抗凝血、免疫调节、癌症预防和慢性疾病 (特别是心脑血管疾病) 预防和治疗作用<sup>[1]</sup>。因而, 对植物多酚的研究已经成为当今科学界的研究热点之一。

三华李属于蔷薇科植物, 有早熟、迟熟两个大品种, 色泽艳丽, 个大肉厚, 肉质爽脆, 酸甜可口, 气味芳香, 是广东茂名特色水果, 具有巨大的经济效益。据报道, 蔷薇科中的其他水果, 包括草莓、树莓、苹

果和梨,富含多酚类化合物,具有较强的抗氧化能力<sup>[2]</sup>。Lombardi-Boccia 等人<sup>[3]</sup>研究发现法国李中含有大量的绿原酸、咖啡酸和阿魏酸。此外,Delgado-Adánnez 等人<sup>[4]</sup>研究结果表明:西班牙李树叶含有丰富的多酚类化合物,包括表儿茶素、槲皮素-3-*O*-芸香糖苷,槲皮素-3-*O*-半乳糖苷,以及山柰酚,具有较强的生物活性,包括抗氧化活性及抑菌活性。然而,未见关于三华李果肉、果核、叶提取物抗氧化活性评价及其中活性化合物分离鉴定的相关研究报道。

因此,本文在前期工作基础上,对比研究三华李果肉、果核及叶乙醇提取物的总酚、总黄酮含量及其抗氧化活性,并以总酚、总黄酮含量及其抗氧化活性为导向,分离鉴定三华李叶中抗氧化活性物质,发掘三华李叶的植物化学成分,为综合利用三华李叶开发保健食品提供理论和方法指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

三华李果实、叶于2013年6月20日采摘于广东省茂名市钱排镇。分别将果实、叶洗净,将果实切半,取出果核,60℃烘干至恒重,粉碎。分别取100g粉碎后的果肉、果核、叶,按料液比1:20(*m/V*),加入80%乙醇(*V/V*),设置提取温度为60℃,采用超声辅助提取法提取(超声功率:800W)90min。2000g离心10min,得上清液,减压浓缩,冻干,制得果肉、果核、叶提取物,放置于-20℃冰箱保藏。

取4kg干燥三华李叶,按料液比1:20(*m/V*)加入80%乙醇(*V/V*),超声(800W)辅助提取90min,2000g离心10min,抽滤,取上清液,按照上述工艺,将滤渣重复提取2次,合并以上三次所得上清液,减压浓缩,得粗提取液,加入石油醚萃取4次,每次加入5L石油醚,合并石油醚相,减压浓缩至恒重,得石油醚相浸膏;取下层水相,加入乙酸乙酯萃取4次,每次加入5L乙酸乙酯,合并乙酸乙酯相,减压浓缩至恒重,得乙酸乙酯相浸膏;将剩余水相减压浓缩至恒重,得水相浸膏。

装硅胶层析柱(100×1500mm,200~300目),经5L氯仿平衡后,取乙酸乙酯相浸膏(100g)上硅胶柱,分别以100%氯仿、氯仿:甲醇(9:1、7:3、5:5、3:7、1:9)和100%甲醇依次洗脱5个柱体积,每250mL收集一个组分,减压蒸馏去除溶剂。薄层色谱法(TLC)检测合并相同组分,共得到10个不同的组分(F1-F10)。将F4组分上Sephadex LH-20柱(24×900mm),用100%甲醇洗脱,每50mL收集一个组分,减压蒸馏去

除溶剂。经TLC检测及HPLC检测,合并相同组分,得到C1(50mg)。将F6组分上Sephadex LH-20柱(24×900mm),用100%甲醇洗脱,每50mL收集一个组分,减压蒸馏去除溶剂。经TLC检测及HPLC检测,合并相同组分,得到10(组分(S1-S10))。S5通过ODS-BP柱(24×400mm)分离,经90%水平衡后,分别以90%水、甲醇:水(20:80、40:60、80:20)、100%甲醇梯度洗脱,每50mL收集一个组分,减压蒸馏去除溶剂。经TLC检测及HPLC检测,合并相同组分,得到C2(200mg)和C3(800mg)。

### 1.2 试剂

无水乙醇、石油醚、氯仿、甲醇、四氢呋喃、硼氢化钠、香草醛、浓盐酸、冰醋酸、氯醌,富宇化学有限公司;甲酸、乙腈,德国Merck公司;没食子酸、儿茶素、山柰酚、氯化铝、AAPH、荧光素钠、Trolox、DPPH,美国Sigma公司。

### 1.3 实验设备

核磁共振波谱仪,DRX-400,德国Bruker公司;高效液相色谱仪,Dionex P680,美国Dionex公司;电喷雾质谱仪,LCQDECA,美国Finigan公司;冷冻干燥机,Alpha 1-4 LD,德国Christ公司;高速冷冻离心机,GL-21M,长沙湘仪离心机仪器有限公司;酶标仪,Varioskan Flash,美国Thermo公司;三用紫外分析仪,ZF-C,上海沪西仪器分析厂。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 总酚含量测定

采用福林-酚法测定<sup>[5]</sup>。取1mL样品或不同体积的没食子酸溶液、5mL蒸馏水、0.5mL福林酚试剂、1.5mL20%(*m/m*)的NaCO<sub>3</sub>溶液,混匀,蒸馏水定容至10mL,40℃保温120min,在760nm波长处测其吸光值。

#### 1.4.2 总黄酮含量测定

采用硼氢化钠/氯醌比色法测定总黄酮含量<sup>[6]</sup>。取样品或儿茶素,加入0.2mL四氢呋喃/乙醇混合物(1:1,*V/V*),然后加入1mL50mM硼氢化钠和0.5mL75mM三氯化铝。室温下振荡30min,再次加入0.5mL50mM硼氢化钠,室温下振荡30min。加入2mL预冷的0.8M的冰醋酸,避光振荡15min。然后加入1mL20mM氯醌,95℃油浴振荡加热60min,冷却后甲醇定容至4mL,然后加入1mL1052mM香草醛,混合后加入2mL浓盐酸,避光振荡下反应15min,在490nm波长处测定其吸光值。

### 1.4.3 DPPH 自由基清除能力测定

采用 Lin 等人的方法<sup>[7]</sup>, 取 2 mL 不同浓度样品溶液与 2 mL 0.2mM DPPH 自由基溶液混匀, 避光反应 30 min 后, 在 517 nm 波长处测得吸光值, 为  $A_{\text{样品}}$ 。将蒸馏水替代样品, 测得的吸光值为  $A_0$ , 将乙醇替代 DPPH 自由基溶液, 测得的吸光度值为  $A_{\text{对照}}$ 。

$$\text{DPPH 自由基清除能力} = [1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}) / A_0] \times 100$$

### 1.4.4 氧自由基吸收能力测定

参考 Huang 等人的方法<sup>[8]</sup>, 并加以改进。用 pH 7.4 的 75 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液配制浓度为 39.9  $\mu\text{M}$  的荧光素钠储备液, 避光, 于 4  $^\circ\text{C}$  保藏。用 pH 7.4 的 75 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液稀释荧光素钠储备液, 即得使用液 (0.159  $\mu\text{M}$ )。AAPH 用 pH 7.4 的 75 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液配制成 38.25 mM, 每次使用的 AAPH 均为新鲜配制, 使用前, 放置于冰水中。精确称量 Trolox, 溶于乙醇, 配成 2 mM 溶液, 并用 pH 7.4 的 75 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液稀释成不同浓度。样品用 DMSO 溶解, 以 pH 7.4 的 75 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液稀释样品溶液。预先将酶标仪欲温至 37  $^\circ\text{C}$ , 保持反应体系温度恒定为 37  $^\circ\text{C}$ 。设定激发波长为 485 nm, 发射波长为 530 nm。在 96 孔板中, 每孔加入 25  $\mu\text{L}$  样品溶液或 Trolox 溶液, 或 pH 7.4 的 75 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$  缓冲液 (空白对照), 然后加入 75  $\mu\text{L}$  荧光素钠使用液, 将孔板放入酶标仪中, 37  $^\circ\text{C}$  孵育 10 min。加入 100  $\mu\text{L}$  AAPH 后, 开始计时反应并读数 ( $f_0$ ), 每分钟读一次数 ( $f_1, f_2, \dots, f_{70}$ ), 共读 71 次数 (共计反应 70 min), 将每次读数连成曲线。每个样品设置 3 个复孔。AUC 表示曲线下的面积。

$$\text{AUC} = 0.5 (f_0 + f_n) + (f_1 + f_2 + \dots + f_i + \dots + f_{n-1})$$

$$\text{Net AUC} = \text{AUC}_{\text{sample}} - \text{AUC}_{\text{blank}}$$

Trolox 浓度与其 Net AUC 成正比, 将样品 Net AUC 代入, 换算得到 ORAC 值。

### 1.4.5 化合物结构鉴定

采用 ESI-MS 分析化合物分子量, 推测化合物化学式; 采用  $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$  分析化合物结构。

### 1.4.6 高效液相色谱法分析化合物含量

选择色谱柱: XBridge C18 色谱柱; 温度: 25  $^\circ\text{C}$ ; 流动相: 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和乙腈 (B) 梯度洗脱; 梯度洗脱程序: 0~10 min: 0~10% B; 10~30 min: 10~30% B; 30~85 min: 30~100% B; 85~95 min: 100~5%B; 95~100 min: 5%B; 检测波长: 254 nm; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20  $\mu\text{L}$ 。

### 1.4.7 数据分析

采用 SPSS 17.0 统计分析软件的 ANOVA 方法对实验数据进行差异显著性检验分析, 以  $p < 0.05$  为

差异显著, 数据表示为平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 三华李果肉、果核、叶提取物总酚、总黄酮含量及抗氧化活性

三华李果肉、果核、叶提取物总酚、总黄酮含量如表 1 所示。其中, 叶提取物总酚含量为 14.75 g 没食子酸当量/100g 提取物, 分别是果肉、果核提取物总酚含量的 3 倍及 4 倍。因此, 采用有机溶剂分级萃取法将叶提取物分级为: 石油醚相浸膏、乙酸乙酯相浸膏和水相浸膏, 以乙酸乙酯相浸膏中总酚含量最高。因硼氢化钠/氯醌比色法可以准确测定样品中包括黄酮类、黄酮醇类、查尔酮、橙酮、异黄酮、花青素、黄烷类在内的黄酮类化合物的含量, 本论文采用硼氢化钠/氯醌比色法测定三华李果肉、果核、叶提取物中总黄酮含量。所有样品总黄酮含量从高到低, 依次为: 叶乙酸乙酯相浸膏 > 叶水相浸膏 = 叶提取物 > 果核提取物 = 叶石油醚相浸膏 = 果肉提取物。

表 1 三华李果肉、果核、叶提取物中总酚、总黄酮含量  
Table 1 Total phenol and flavonoid content of the extracts from plum fruit pulp, fruit pit, and leaf

样品	总酚含量/(g 没食子酸当量/100 g 提取物)	总黄酮含量/(g 儿茶素当量/100 g 提取物)
果肉提取物	3.90 $\pm$ 0.57 <sup>d</sup>	2.32 $\pm$ 0.25 <sup>c</sup>
果核提取物	2.42 $\pm$ 0.25 <sup>e</sup>	2.89 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>
叶提取物	14.75 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>	5.45 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>
叶石油醚相浸膏	4.41 $\pm$ 0.27 <sup>d</sup>	2.36 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>
叶乙酸乙酯相浸膏	26.33 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	16.56 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>
叶水相浸膏	10.58 $\pm$ 1.02 <sup>c</sup>	5.47 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>

注: 同列中标注不同角标者具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

此外, 本论文研究了三华李果肉、果核、叶提取物的 DPPH 自由基清除能力及氧自由基吸收能力, 如表 2 所示。所有样品的 DPPH 自由基清除能力从强到弱, 依次为: 叶乙酸乙酯相浸膏 > 叶水相浸膏 = 叶提取物 > 叶石油醚相浸膏 > 果核提取物 > 果肉提取物。此外, 所有样品的氧自由基吸收能力排序为: 叶乙酸乙酯相浸膏 > 叶提取物 > 叶水相浸膏 > 叶石油醚相浸膏 > 果核提取物 = 果肉提取物。DPPH 法与 ORAC 法测试的机理不同, 前者评价了样品的还原能力, 后者是一种经典的基于氢质子转移反应机理的测定方法, 所涉及的过氧化氢自由基在食品和生物体系中所不期望发生的油脂氧化反应中扮演着重要作用。本论文结合两种方法, 评价样品的抗氧化活性, 得出叶乙酸乙酯相浸膏

富集了大量的植物化学成分, 可望从此组分分离得到抗氧化活性卓越的化合物。

表2 三华李果肉、果核、叶提取物抗氧化性评价

Table 2 Oxygen radical absorbance capacities and DPPH radical scavenging activities of the extracts from plum fruit pulp, fruit pit, and leaf

样品	DPPH 自由基清除能力/(IC <sub>50</sub> , μg/mL)	ORAC 值/(μmol trolox equiv/g)
果肉提取物	734.55±21.85 <sup>a</sup>	895.60±76.93 <sup>c</sup>
果核提取物	517.52±17.65 <sup>b</sup>	984.98±20.18 <sup>e</sup>
叶提取物	79.75±7.42 <sup>d</sup>	6521.74±73.17 <sup>b</sup>
叶石油醚相浸膏	268.55±9.12 <sup>c</sup>	1254.56±64.26 <sup>d</sup>
叶乙酸乙酯相浸膏	28.77±1.64 <sup>e</sup>	11214.93±20.30 <sup>a</sup>
叶水相浸膏	100.07±6.97 <sup>d</sup>	5769.01±43.83 <sup>c</sup>

注: 同列中标注不同角标者具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

## 2.2 三华李叶活性物质分离鉴定

采用柱层析法, 从三华李叶中分离得到三个黄酮类化合物, 通过核磁共振法 (NMR) 及电喷雾质谱法 (ESI-MS), 鉴定为山柰酚-3,7-二-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷, 山柰酚-3-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷以及山柰酚-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷, 三个化合物均为首次从三华李叶中分离得到。

C1, 无定型黄色粉末, ESI-MS  $m/z$  433.4 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ : 7.67 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-2',6'), 6.84 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3',5'), 6.28 (1H, s, H-8), 6.11 (1H, s, H-6), 5.28 (1H, s, H-1''), 4.13 (1H, s, H-2''), 3.80 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3''), 3.39 (2H, m, H-4'', 5''), 0.82 (3H, d,  $J=4.0$  Hz, H-6''). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ : 178.3 (C-4), 163.5 (C-7), 161.7 (C-5), 160.6 (C-4'), 158.9 (C-2), 157.5 (C-9), 136.5 (C-3), 131.8 (C-2',6'), 121.1 (C-1'), 114.6 (C-3',5'), 106.2 (C-10), 102.9 (C-1'''), 99.1 (C-6), 94.1 (C-8), 73.6 (C-4''), 71.9 (C-3''), 71.7 (C-2''), 71.3 (C-5''), 17.3 (C-6''). C1 的核磁、质谱数据与 Chung 等人<sup>[9]</sup>所报道的数据吻合, 鉴定为山柰酚-3-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷。

C2, 无定型黄色粉末, ESI-MS  $m/z$  433.4 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ : 8.09 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-2',6'), 6.89 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3',5'), 6.72 (1H, s, H-8), 6.40 (1H, s, H-6), 5.55 (1H, s, H-1''), 4.01 (1H, s, H-5''), 3.84 (1H, m, H-3''), 3.60 (1H, m, H-2''), 3.48 (1H, m, H-4''), 1.25 (3H, s, H-6''). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ : 177.5 (C-4), 163.3 (C-7), 162.2 (C-5), 160.7 (C-4'), 148.7 (C-2), 157.3 (C-9), 137.5 (C-3), 130.8 (C-2',6'), 123.5 (C-1'), 116.3 (C-3',5'), 106.2 (C-10), 99.9 (C-1''), 99.8 (C-6), 95.3 (C-8), 73.6 (C-4''), 72.1 (C-3''),

71.7 (C-2''), 71.1 (C-5''), 18.1 (C-6''). C2 的核磁、质谱数据与 Tsopmo 等人<sup>[10]</sup>所报道的数据吻合, 鉴定为山柰酚-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷。

C3, 无定型黄色粉末, ESI-MS  $m/z$  601.5 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ : 7.78 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-2',6'), 6.93 (2H, d,  $J=8.0$  Hz, H-3',5'), 6.71 (1H, s, H-8), 6.45 (1H, s, H-6), 5.55 (1H, s, H-1''), 5.39 (1H, s, H-1'''), 4.22 (1H, s, H-2''), 4.02 (1H, s, H-2'''), 3.85 (1H, m, H-3''), 3.71 (1H, d,  $J=4.0$  Hz, H-3'''), 3.59 (1H, m, H-5'''), 3.48 (1H, t,  $J=8.0$  Hz, H-4''), 3.32 (1H, t,  $J=8.0$  Hz, H-4'''), 3.23 (1H, m, H-5''), 1.26 (3H, d,  $J=8.0$  Hz, H-6''), 0.93 (3H, d,  $J=8.0$  Hz, H-6'''). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$ : 178.9 (C-4), 162.5 (C-7), 161.8 (C-5), 160.7 (C-4'), 158.6 (C-2), 157.0 (C-9), 135.5 (C-3), 130.8 (C-2',6'), 121.4 (C-1'), 115.6 (C-3',5'), 106.6 (C-10), 102.5 (C-1'''), 99.5 (C-6), 98.9 (C-1''), 94.4 (C-8), 72.6 (C-4''), 72.2 (C-4'''), 71.1 (C-3'', 3'''), 70.9 (C-2''), 70.7 (C-2'''), 70.3 (C-5'',5'''), 17.1 (C-6''), 16.7 (C-6'''). C3 的核磁、质谱数据与 Takaya 等人<sup>[11]</sup>所报道的数据吻合, 鉴定为山柰酚-3,7-二-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷。

## 2.3 活性化合物的抗氧化活性评价

表3 三华李活性化合物的抗氧化性评价

Table 3 Oxygen radical absorbance capacities and DPPH radical scavenging activities of the purified compounds

样品	DPPH 自由基清除能力/(IC <sub>50</sub> , μg/mL)	ORAC 值/(μmol trolox equiv/μmol)
山柰酚-3,7-二- <i>O</i> - $\alpha$ -L-鼠李糖苷	632.97±9.94 <sup>a</sup>	3.77±0.07 <sup>b</sup>
山柰酚-3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-鼠李糖苷	453.22±9.59 <sup>b</sup>	3.82±0.05 <sup>b</sup>
山柰酚-7- <i>O</i> - $\alpha$ -L-鼠李糖苷	12.93±2.93 <sup>c</sup>	8.83±0.05 <sup>a</sup>
山柰酚	7.71±0.41 <sup>c</sup>	9.07±0.05 <sup>a</sup>

注: 同列中标注不同角标者具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

本论文研究了山柰酚-3,7-二-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-3-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷及山柰酚抗氧化活性, 结果如表3所示。山柰酚-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷的 DPPH 自由基清除能力与山柰酚接近, 且为所有样品中最强, 两者的 DPPH 自由基清除能力约为山柰酚-3,7-二-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷的 60 倍。此外, 山柰酚-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷的 ORAC 值与山柰酚接近, 氧自由基吸收能力最强。因山柰酚-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚均含有邻二苯酚结构, 且含有 3-OH、5-OH, 山柰酚-7-*O*- $\alpha$ -L-鼠李糖苷的抗氧化能力接近于山柰

酚,是很强的抗氧化剂。由此可见,7-OH 的缺失,不影响山柰酚的抗氧化性。然而,3-OH 的缺失,会大大降低山柰酚的抗氧化性。然而,山柰酚-3,7-二-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷可在肠道中被水解为山柰酚<sup>[12]</sup>,从而发挥其抗氧化性,因此,三种化合物可作为保健食品功效因子。

## 2.4 三华李中活性化合物的含量

本论文研究了三种活性化合物在三华李果肉、果核、叶提取物中的含量,如表 4 所示。山柰酚-3,7-二

-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷是叶提取物中最主要的化合物,含量高达 6.40 g/100g 提取物,分别是山柰酚-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷含量的 8.1 倍及 17.3 倍。三种化合物均在乙酸乙酯相浸膏中富集。然而,这三种化合物在果肉、果核中的含量较低。由于种属差异、种植环境差异,经高效液相色谱法分析,未能在三华李果肉、果核、叶提取物中检测到儿茶素、槲皮素-3-O-芸香糖苷,槲皮素-3-O-半乳糖苷、绿原酸、咖啡酸和阿魏酸。三华李中其他活性成分有待于进一步研究。

表 4 三华李中活性化合物的含量

Table 4 Kaempferol-3,7-O- $\alpha$ -L-dirhamnoside, kaempferol-3-O- $\alpha$ -L-rhamnoside, and kaempferol-7-O- $\alpha$ -L-rhamnoside content in the extracts from plum fruit pulp, fruit pit, and leaf

样品	山柰酚-3,7-二-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷 (g/100g 提取物)	山柰酚-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷 (g/100g 提取物)	山柰酚-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷 (g/100g 提取物)
果肉提取物	0.08 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.10 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.06 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
果核提取物	0.08 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.09 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.06 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
叶提取物	6.40 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	0.79 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.37 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
叶石油醚相浸膏	0.98 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	0.27 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.16 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>
叶乙酸乙酯相浸膏	6.62 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	7.08 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	2.71 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
叶水相浸膏	5.78 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.20 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	0.13 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>

注: 同列中标注不同角标者具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

## 3 结论

三华李叶提取物含有丰富的多酚类物质,特别是黄酮类化合物,其含量高于三华李果肉、果核提取物。首次从三华李叶中分离得到三种山柰酚衍生物,包括:山柰酚-3,7-二-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-3-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、山柰酚-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷。山柰酚-7-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷具有很强的抗氧化活性。三华李叶提取物可作为有效的抗氧化剂用于保健食品。

## 参考文献

- [1] Ozdal T, Capanoglu E, Altay F. A review on protein-phenolic interactions and associated changes [J]. Food Research International, 2013, 51(2): 954-70
- [2] Gil MI, Tomás-Barberán FA, Hess-Pierce B, et al. Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17): 4976-4982
- [3] Lombardi-Boccia G, Lucarini M, Lanzi S, et al. Nutrients and Antioxidant Molecules in Yellow Plums (*Prunus domestica* L.) from Conventional and Organic Productions: A Comparative Study [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(1): 90-94
- [4] Delgado-Adán J, Fernández-León MF, Velardo-Micharet B, et al. *In vitro* assays of the antibacterial and antioxidant activity of aqueous leaf extracts from different *Prunus salicina* Lindl. Cultivars [J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(7): 2481-2486
- [5] Lin L, Zhao H, Dong Y, et al. Macroporous resin purification behavior of phenolics and rosmarinic acid from *Rabdosia serra* (MAXIM.) HARA leaf [J]. Food Chemistry, 2012, 130(2): 417-424
- [6] He X, Liu D, Liu RH. Sodium Borohydride/Chloranil-Based Assay for Quantifying Total Flavonoids [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(20): 9337-9344
- [7] Lin L, Lei F, Sun DW, et al. Thermal inactivation kinetics of *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara leaf peroxidase and polyphenol oxidase and comparative evaluation of drying methods on leaf phenolic profile and bioactivities [J]. Food Chemistry, 2012, 134(4): 2021-2029
- [8] Huang DJ, Ou B, Hampsch-Woodill M, et al. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a

- microplate fluorescence reader in 96-well format [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(16): 4437-4444
- [9] Chung SK, Kim YC, Takaya Y, et al. Novel Flavonol Glycoside, 7-O-Methyl Mearnsitrin, from *Sageretia theezans* and Its Antioxidant Effect [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(15): 4664-4668
- [10] Tsopmo A, Muir AD. Chemical Profiling of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) Cultivars and Isolation of Compounds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(15): 8715-8721
- [11] Takaya Y, Kondo Y, Furukawa T, et al. Antioxidant Constituents of Radish Sprout (Kaiware-daikon), *Raphanus sativus* L. [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(27): 8061-8066
- [12] Hein E, Rose K, Slot G, et al. Deconjugation and Degradation of Flavonol Glycosides by Pig Cecal Microbiota Characterized by Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56 (6): 2281-2290

现代食品科技