

山茱萸的化学成分及其抗氧化活性

冀麟麟, 王欣, 钟祥健, 李金杰, 王志鑫, 尚小雅

(北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191)

摘要: 为明确药食两用山茱萸化学成分的抗氧化活性, 本研究以山茱萸乙醇提取物为原料, 对乙醇提取物大孔吸附树脂 20%乙醇洗脱部位中抗氧化活性组分进行研究, 采用大孔吸附树脂柱层析常压正相硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析、Flash 闪式正相硅胶柱层析、高压液相色谱等色谱方法对山茱萸乙醇提取物抗氧化活性部位进行系统的分离纯化, 并结合核磁共振波谱数据、质谱数据与文献对比, 从山茱萸乙醇提取物中共分离鉴定了 5 个化合物, 分别为 7- β -O-乙基莫诺昔 (1)、7- α -O-乙基莫诺昔 (2)、3-O-咖啡酰奎宁酸甲酯 (3)、(7R, 9R, 10R)-3, 9-di-hydroxicalameneno (4) 和吐叶醇 (5); 其中化合物 3、4 和 5 为首次从山茱萸中分离得到。同时采用 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 法和铁离子还原法 (Ferric ion reducing antioxidant power, FRAP) 对分离得到的单体化合物进行抗氧化活性筛选。在 DPPH 自由基清除试验和 FRAP 试验中, 化合物 1、2 和 3 均显示一定的抗氧化能力, 其中化合物 3 抗氧化活性最好。

关键词: 山茱萸; 化学成分; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2019)05-137-143

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.020

Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Cornus officinalis*

Ji Lin-lin, Wang Xin, Zhong Xiang-jian, Li Jin-jie, Wang Zhi-xin, Shang Xiao-ya

(Beijing Key Laboratory of Bioactive Substance and Functional Foods, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: To clarify the chemical composition and antioxidant activity of *Cornus officinalis*, a dual-use species for medicine and food, the ethanol extract of *Cornus officinalis* was used as raw material in this research for examining the antioxidant components in the 20% ethanol elution of the ethanol extract through macroporous adsorption resin. The antioxidative fraction of the alcohol extract was subjected to systematic isolation and purification by chromatography techniques such as macroporous resin column chromatography, normal phase silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, flash reversed phase silica gel column chromatography, and preparative HPLC chromatography. Based on the data obtained by nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry and from literature, five compounds were isolated and identified from the ethanol extract of *Cornus officinalis*: 7- β -O-ethylmorroneiside (1), 7- α -O-ethylmorroneiside (2), 3-O-caffeoylquinic acid *n*-butyl ester (3), (7R, 9R, 10R)-3, 9-di-hydroxicalameneno (4), and vomifolol (5), among which compounds 3-5 were isolated for the first time from *Cornus officinalis*. In the meantime, the antioxidant activity of the isolated monomeric compound was evaluated using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assays. Compounds 1-3 all showed certain antioxidant activities in the DPPH and FRAP experiments, with Compound 3 exhibiting the highest antioxidant activity.

Key words: *Cornus officinalis*; chemical composition; antioxidant activity

氧化应激反应对人体衰老和健康具有非常重大的影响, 各种因素导致的过量自由基可以引发和加剧多种疾病, 例如阿尔兹海默病、心血管疾病、恶性肿瘤等, 因此应用抗氧化剂来维持人体健康具有广泛的需求^[1]。由于合成抗氧化剂存在潜在致癌、毒性等风

收稿日期: 2018-11-04

基金项目: 北京市教委科技计划重点项目 (KZ201811417049); 北京市教委面上项目 (KM201811417008)

作者简介: 冀麟麟 (1993-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 生物活性物质的分离纯化结构鉴定

通讯作者: 尚小雅 (1968-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 生物活性物质的发掘与作用机理

险, 寻找安全、有效、无毒的天然抗氧化剂, 成为了当今食品科学中抗氧化剂开发的必然趋势^[2], 而药食两用植物资源也成为食用抗氧化剂开发的重要原料。

山茱萸 (*Cornus officinalis*) 属于山茱萸科山茱萸属植物, 主产于山西、陕西、甘肃、河南和湖南等省, 其作为药食两用资源在我国广泛使用, 干燥成熟果肉是我国传统的名贵滋补中药材^[3]。山茱萸首载于《神农本草经》, 称“山茱萸味酸平, 主心下邪气、逐寒湿痹, 去三虫, 久服轻身”, 其具有补益肝肾、收涩固脱的功效, 用于治疗眩晕耳鸣、腰膝酸痛、阳痿遗精、内热消渴等^[4]。据文献报道, 山茱萸中主要含有环烯醚萜及其苷、三萜、黄酮、鞣质、有机酸等化学成分,

其中环烯醚萜苷类成分是其主要成分^[5-8]；药理研究表明，山茱萸具有降糖、抗氧化、抗肿瘤、神经保护、抗老年痴呆等作用^[9-12]。

文献报道山茱萸乙醇提取物具有很好的抗氧化活性，有开发为天然抗氧化剂的潜力，至今仅见其提取物或者分离部位的抗氧化活性报道，抗氧化活性成分是什么，却一直没有研究清楚^[13-15]。为明确山茱萸的抗氧化活性成分，本文对山茱萸乙醇提取物中显示有抗氧化活性的20%大孔树脂洗脱部位的化学成分进行系统分离，从中分离鉴定了5个化合物，并采用 DPPH 自由基清除法和 FRAP 法对分离得到的单体化合物进行了抗氧化活性测试，发现3个化合物具有较好的抗氧化活性，这为阐明山茱萸的抗氧化物质基础提供了依据，为以山茱萸为原料开发天然抗氧化剂提供理论基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Buch 旋转蒸发仪，瑞士 Buch 公司；Inova 500 核磁共振仪，美国 Varian 公司；Waters2545 高效液相色谱仪，Waters 公司（Sunfire C18 制备柱，19 mm×250 mm×5 μm，Waters 2998 型检测器）；Buch 中压液相色谱仪，瑞士 Buch 公司；CombiFlash Companion 快速分离仪（正相硅胶制备柱，ISCO 公司产品）；PALL 纯水机，美国 Pall 公司产品；紫外灯（Crest Ultrasonics，型号 TRU-SWEEP™ D）。

1.2 试剂

山茱萸购买于河南西峡（经宣武医院王文教授鉴定为山茱萸属山茱萸 *Cornus officinalis* 的果实），留样保存于北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室。Sephadex LH-20，Pharmacia 公司；柱色谱硅胶（160~200 目）和薄层色谱硅胶 GF254，青岛海洋化工厂；十八烷基硅烷键合硅胶（RPC₁₈，德国默克公司）。氯仿、甲醇、乙醇及硫酸等试剂，分析纯，北京化学试剂厂；HPLC 用溶剂为色谱纯，美国 Fisher 公司；实验用水为超纯水。1,1-二苯基-2-三硝基苯肼（1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH）、FRAP 抗氧化活性测试试剂盒购买自南京建成生物科技有限公司。

2 实验方法

2.1 单体化合物的提取与分离纯化

山茱萸 25 kg，采用 50%乙醇超声提取 3 次，每次 1 h，合并 3 次提取液减压浓缩得到浸膏（4.3 kg）。将浸膏分散于水中，上样至用水平衡的 HP-20 型大孔树脂色谱柱，分别用水、20%乙醇、60%乙醇、95%乙醇洗脱，浓缩各洗脱部分，得到 4 个部位。其中 20%乙醇洗脱部位 1.25 kg。将 20%乙醇洗脱部位溶解，过正相硅胶柱，以氯仿:甲醇（10:1~0:1）进行梯度洗脱，得到氯仿:甲醇=10:1、8:1 和甲醇组分，共计三个组分 A1~A3。将 A1 部分过反相硅胶柱，以乙醇:水=5:95:1:0 进行梯度洗脱，得到组分 A1-1~A1-14。A1-2 部分经硅胶柱，以氯仿:甲醇（20:1~0:1）进行梯度洗脱，得到 A1-2-1~A1-2-6 组分，A1-2-2、A1-2-3 和 A1-2-4 组分分别进行 Sephadex LH-20 凝胶柱层析，以氯仿:甲醇（2:1）为洗脱剂，将三个组分中相同的部分合并，根据 TLC 点样，以氯仿:甲醇（10:1）为展开剂，硫酸乙醇显色，确定其中 1 个组分中有明确的红色的斑点。将此组分通过低压反相 Flash 柱，以甲醇:水（30:70~100:0）进行洗脱，最后通过制备高效液相分离，以甲醇:水（45:55）洗脱，得到化合物 1（35 mg）和化合物 2（17 mg）。组分 A1-2-1 首先经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱，以氯仿:甲醇（2:1）为洗脱剂，富集主要斑点，主斑点部分再次经过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱，以石油醚:氯仿:甲醇（5:5:1）进行洗脱，最后通过制备 HPLC，甲醇:水（30:70）进行制备，得到化合物 3（14 mg）。组分 A1-1 依次通过硅胶柱色谱，用氯仿:甲醇（30:1~1:0）进行梯度洗脱，得到 A1-1-1~A1-1-6 部分，其中 A1-1-3 部分再次通过硅胶柱色谱，用石油醚:丙酮（6:1~1:1）进行梯度洗脱，然后通过 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱，以石油醚:氯仿:甲醇（5:5:1）进行洗脱，最后采用制备 HPLC（甲醇:水=65:45）进行制备，得到化合物 4（9 mg）和化合物 5（12 mg）。

2.2 抗氧化活性测试

2.2.1 DPPH 自由基清除率测定

DPPH 自由基清除率测定参考 shen yingbing 等^[16]方法，稍作修改：以 95%的乙醇为溶剂配置浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH 自由基溶液，备用。取 100 μL 浓度为 100 μM 的受试物溶液同 100 μL DPPH 溶液混合，25 °C 避光反应 30 min，反应液置于 96 孔板中测定，分别设置 3 个孔，测量反应混合物在 517 nm 处的吸光度，吸光度取平均值，以 Vc 做阳性对照，95%乙醇做空白对照。清除率计算公式如下：

$$\text{DPPH 清除率} = [1 - A_1/A_0] \times 100$$

其中：A₁ 为化合物反应液吸光度，A₀ 为空白对照吸光度。

2.2.2 FRAP 总抗氧化能力测定

标准曲线的测定：称取 27.8 mg 试剂盒提供的 FeSO₄·7H₂O，溶解并定容到 1 mL。取适量 100 mmol/L FeSO₄溶液稀释至 0.15、0.3、0.6、0.9、1.2 和 1.5 mmol/L。测试各个浓度的 OD 值，绘制标准曲线。

总抗氧化能力测试：于 96 孔板中加入 180 μL FARP 工作液，随后加入浓度为 100 μM 的化合物，轻轻混匀，于 37 °C 孵育 3~5 min，测试在 593 nm 处 OD 值，根据标准曲线计算样品的总抗氧化能力。

3 结果与讨论

3.1 化合物结构鉴定

3.1.1 化合物结构解析

化合物 1 为白色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 457 [M+Na]⁺，结合 NMR 谱数据推测分子式可能为 C₁₉H₃₀O₁₁，UV 在 238 nm 处有最大吸收。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz)谱显示在低场有一个连氧烯氢信号 δ_H 7.48 (1H, s)；一个半缩醛氢信号 δ_H 5.85 (1H, d, *J*=9.3 Hz)，两个连氧氢信号在 δ_H 4.84 (1H, o)和 4.30 (1H, m)处；一个甲氧基信号在 δ_H 3.67 (3H, s)处；一组葡萄糖氢信号在 δ_H 3.19~4.76 之间，其中 δ_H 4.76 处信号为葡萄糖端基氢信号，根据其耦合常数 *J*=7.9 Hz 确定其构型为 β 构型；除此之外，还有一组相互耦合的乙氧基信号 δ_H 3.60 (2H, o)和 1.20 (3H, t, *J*=7.2 Hz)，推测其为乙氧基取代的裂环环烯醚萜苷。 ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz)谱显示有 20 个碳信号，其中有一个羰基碳信号在 δ_C 168.7，2 个双键碳信号 δ_C 154.5 和 111.6，2 个半缩醛碳信号 δ_C 98.2 和 95.6，一组葡萄糖碳信号在 δ_C 62.8~100.1，其中 δ_C 100.1 处碳为端基碳。结合 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 推测化合物为莫诺昔衍生物，通过与文献^[17]数据对比，确定化合物 1 为 7-β-O-乙基莫诺昔，其结构式如图 1。

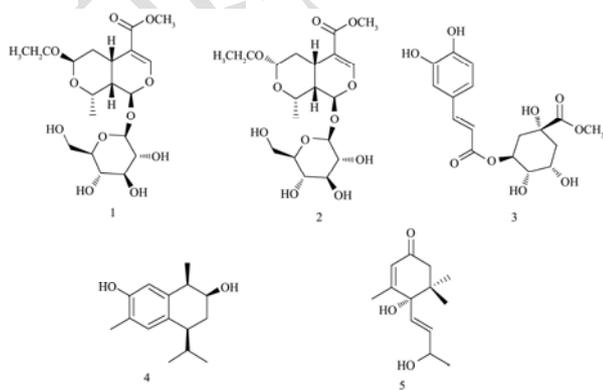


图 1 化合物 1~5 的结构式

Fig.1 The structures of compounds 1~5

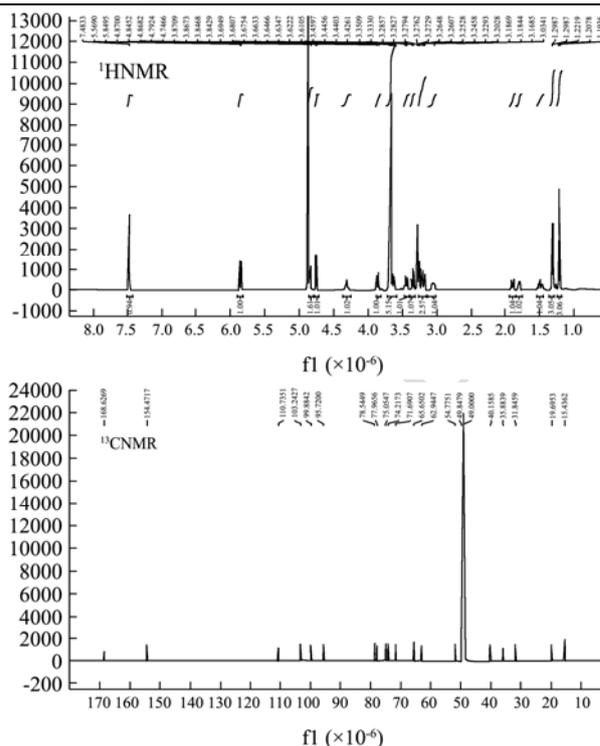


图 2 化合物 1 的 NMR 图谱

Fig.2 The NMR spectra of compound 1

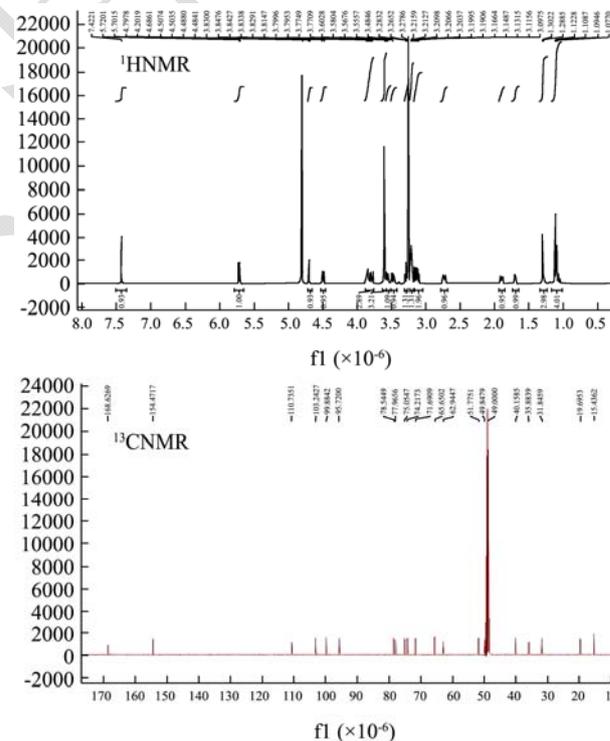


图 3 化合物 2 的 NMR 图谱

Fig.3 The NMR spectra of compound 2

化合物 2 为白色无定形粉末，ESI-MS *m/z* 457 [M+Na]⁺，结合 NMR 谱数据推测分子式可能为 C₁₉H₃₀O₁₁，UV 在 238 nm 处有最大吸收。¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz)谱显示其数据与化合物 1 非常相似，均有一组环烯醚萜信号 δ_H 5.80 (1H, d, *J*=9.3 Hz)，

和 ^{13}C NMR 推测可能为紫罗兰酮类降倍半萜。通过与文献^[20]数据对比, 确定化合物 5 为吐叶醇。

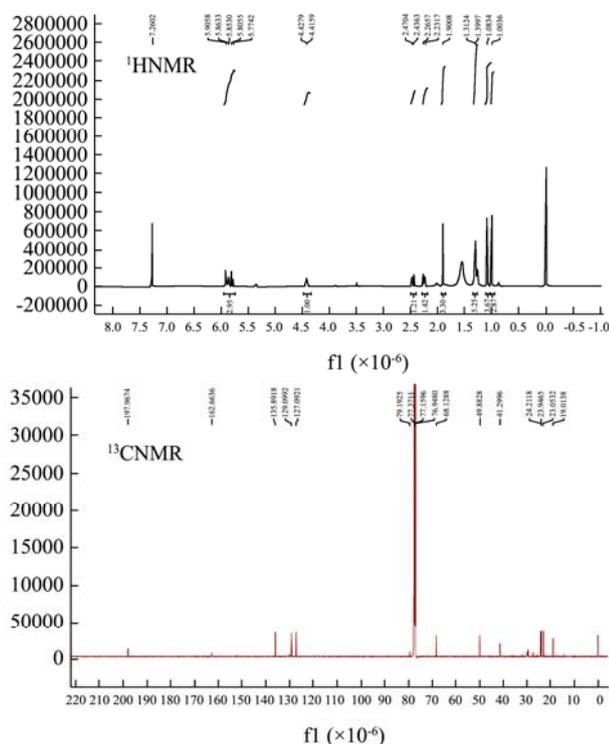


图 6 化合物 5 的 NMR 图谱

Fig.6 The spectra NMR of compound 5

3.2 化合物的波谱数据

化合物 1 (7- β -O-乙基莫诺昔): 白色无定形粉末, ESI-MS m/z 457 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -128 (c 0.08, CH_3OH)。 ^1H -NMR (CD_3OD , 500MHz) δ : 5.85 (1H, d, J = 9.3 Hz, H-1), 7.48 (1H, s, H-3), 3.04 (1H, m, H-5), 1.48 (1H, m, H-6 α), 1.89 (1H, m, H-6 β), 4.84 (1H, o, H-7), 4.30 (1H, m, H-9), 1.79 (1H, m, H-9), 1.30 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-10), 3.67 (3H, s, H-12), 3.60 (2H, o, H-13), 1.20 (3H, t, J = 7.2 Hz, H-15), 4.76 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1'), 3.19 (1H, dd, J = 7.9, 9.3 Hz, H-2'), 3.35 (1H, dd, J = 9.0, 9.0 Hz, H-3'), 3.28 (1H, o, H-4'), 3.48 (1H, m, H-5'), 3.62 (1H, dd, J = 12.2, 6.3 Hz, H-6' α), 3.85 (1H, dd, J = 12.3, 2.2 Hz, H-6' β); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 125MHz) δ : 95.6 (C-1), 154.5 (C-3), 111.6 (C-4), 28.0 (C-5), 33.9 (C-6), 98.2 (C-7), 66.3 (C-8), 40.4 (C-9), 19.7 (C-10), 168.7 (C-11), 51.8 (C-12), 63.8 (C-13), 15.4 (C-15), 100.1 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.5 (C-3'), 71.6 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.8 (C-6')。

化合物 2 (7- α -O-乙基莫诺昔): 白色无定形粉末, ESI-MS m/z 457 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -119 (c 0.06, CH_3OH)。 ^1H -NMR (CD_3OD , 500MHz) δ : 5.80 (1H, d, J = 9.3 Hz, H-1), 7.52 (1H, s, H-3), 2.82 (1H, m, H-5), 1.17

(1H, m, H-6 α), 2.00 (1H, m, H-6 β), 4.59 (1H, dd, J = 11.5, 7.6 Hz, H-7), 3.57 (1H, m, H-8), 1.79 (1H, m, H-9), 3.67 (3H, s, H-12), 3.94 (2H, o, H-13), 1.20 (3H, t, J = 7.2 Hz, H-14), 4.79 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1'), 3.21 (1H, dd, J = 7.9, 9.3 Hz, H-2'), 3.36 (1H, dd, J = 9.0, 9.0 Hz, H-3'), 3.29 (1H, o, H-4'), 3.50 (1H, m, H-5'), 3.62 (1H, dd, J = 12.2, 6.3 Hz, H-6' α), 3.85 (1H, dd, J = 12.3, 2.2 Hz, H-6' β); ^{13}C -NMR (CD_3OD , 125MHz) δ : 95.7 (C-1), 154.5 (C-3), 110.7 (C-4), 31.8 (C-5), 35.8 (C-6), 99.8 (C-7), 74.2 (C-8), 40.1 (C-9), 19.7 (C-10), 168.6 (C-11), 51.8 (C-12), 65.6 (C-13), 15.4 (C-15), 103.2 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.5 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.9 (C-6')。

化合物 3 (3-O-咖啡酰奎宁酸甲酯): 淡黄色粉末, ESI-MS m/z 367 $[\text{M}-\text{H}]^-$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -97 (c 0.05, CH_3OH)。 ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) δ : 1.75 (1H, m, H-2 α), 1.90 (1H, m, H-2 β), 5.00 (1H, m, H-3), 3.86 (1H, m, H-4), 3.55 (1H, m, H-5), 2.10 (2H, m, H-6), 6.11 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-2'), 7.38 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-3'), 7.01 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-5'), 6.75 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8'), 6.95 (1H, dd, J = 8.4, 1.6 Hz, H-9'), 3.55 (3H, s, OCH_3)。 ^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 125 MHz) δ : 73.5 (C-1), 35.6 (C-2), 71.5 (C-3), 69.7 (C-4), 67.3 (C-5), 37.7 (C-6), 174.1 (C-7), 165.8 (C-1'), 114.2 (C-2'), 145.6 (C-3'), 125.8 (C-4'), 115.1 (C-5'), 146.1 (C-6'), 149.0 (C-7'), 116.3 (C-8'), 121.8 (C-9'), 53.3 (OCH_3)。

化合物 4 (7R, 9R, 10R)-3, 9-di-hydroxicalameneno: 白色粉末, ESI-MS m/z 235 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -76 (c 0.03, MeOH)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 2.60 (1H, m, H-1), 3.50 (1H, m, H-2), 2.04 (1H, m, H-3 α), 1.49 (1H, m, H-3 β), 2.87 (1H, m, H-4), 6.98 (1H, s, H-5), 6.70 (1H, s, H-8), 2.38 (1H, m, H-11), 1.02 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-12), 0.65 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-13), 1.30 (3H, d, J = 6.7 Hz, H-14), 2.21 (3H, s, H-15); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 41.6 (C-1), 74.0 (C-2), 31.8 (C-3), 42.4 (C-4), 129.3 (C-5), 121.5 (C-6), 152.0 (C-7), 113.0 (C-8), 139.6 (C-9), 131.0 (C-10), 31.0 (C-11), 15.7 (C-12), 20.9 (C-13), 16.9 (C-14), 15.9 (C-15)。

化合物 5 (吐叶醇): 无色油状物, ESI-MS: m/z 225 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +45 (c 0.05, CHCl_3)。 ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 5.62 (1H, s, H-2), 2.09 (1H, d, J = 12.0 Hz, H-6 α), 2.96 (1H, d, J = 12.0 Hz, H-6 β), 5.82 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 5.75 (1H, dd, J = 16.0, 5.0 Hz, H-8), 4.40 (1H, m, H-9), 1.30 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-10), 0.95 (3H, s, H-11), 0.90 (3H, s, H-12), 1.90 (3H, s, H-13); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 197.9 (C-1), 127.1 (C-2), 162.7

(C-3), 79.2 (C-4), 41.3 (C-5), 49.9 (C-6), 129.1 (C-7), 135.9 (C-8), 68.1 (C-9), 19.0 (C-10), 23.9 (C-11), 23.0 (C-12), 24.2 (C-13)。

3.3 化合物抗氧化活性

3.3.1 DPPH 自由基清除率

大孔树脂柱色谱洗脱部位和粗分组分的 DPPH 自由基清除试验中, 如表 1 所示, 20%乙醇洗脱部位具有较好的 DPPH 自由基清除能力, 清除率大于 70%; 20%乙醇洗脱部位的粗组分中, A1 组分具有最好的 DPPH 自由基清除能力, 因此首先选择对 A1 组分进行系统研究。

单体化合物的 DPPH 自由基清除试验中, 如表 2 所示, 化合物 1、2 和 3 对 DPPH 自由基清除率大于 50%, 其中化合物 3 效果最好, 清除率达 73%。化合物 4 和化合物 5 对 DPPH 自由基几乎无清除作用。有文献报道, 山茱萸乙醇提取物具有很好的清除自由基活性, 其活性成分可能为多酚类或环烯醚萜类^[13-15,21], 而本实验结果表明, 化合物 1 和 2 为环烯醚萜类成分, 化合物 3 为酚类成分, 均具有清除自由基活性。而环烯醚萜类苷类成分抗氧化活性主要体现在细胞内的抗氧化应激作用^[14,15], 而体外活性研究报道较少。

表 1 各部位和分离组分对 DPPH 自由基清除率

Table 1 The DPPH free radical scavenging rate of isolated fractions (x±s, n=3)

组别	DPPH/%
水相	51.23±2.22
20%乙醇洗脱相	78.29±2.33
60%乙醇洗脱相	45.15±1.39
95%乙醇洗脱相	65.69±3.37
A1 组分	79.42±1.10
A2 组分	65.56±1.77
A3 组分	23.89±0.43

表 2 各单体化合物对 DPPH 自由基清除率

Table 2 The DPPH free radical scavenging rate of compounds 1~5 (x±s, n=3)

化合物	DPPH/%
化合物 1	64.12±0.98
化合物 2	62.46±0.31
化合物 3	73.54±0.62
化合物 4	21.39±1.21
化合物 5	15.33±2.26
Vc	93.96±0.21

3.3.2 FRAP 总抗氧化能力

采用总抗氧化能力检测试剂盒 (FRAP 法) 对分

离得到的 5 个单体化合物进行抗氧化活性测试, 结果表明化合物 1~3 具有一定的抗氧化活性, 化合物 4 和 5 未表现出活性。FRAP 测试结果与 DPPH 结果一致, 推测山茱萸中的抗氧化活性成分可能为环烯醚萜苷类和酚类成分。

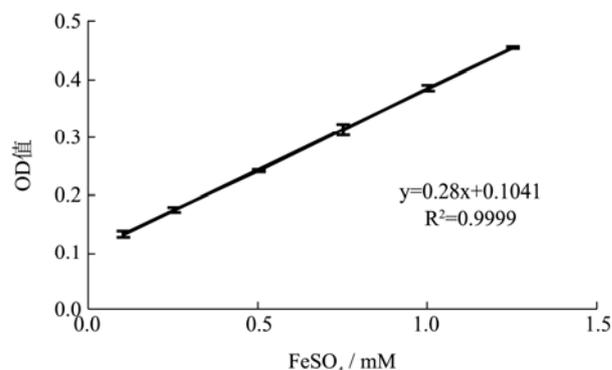


图 7 FeSO₄ 标准曲线

Fig.7 The standard curve of FeSO₄

表 3 各单体化合物的总抗氧化能力

Table 3 Total antioxidant activities of compounds (x±s, n=3)

化合物	OD 均值	FeSO ₄ 当量/mM
化合物 1	0.19±0.010	0.32±0.030
化合物 2	0.18±0.011	0.29±0.040
化合物 3	0.21±0.021	0.40±0.073
Vc	0.24±0.015	0.50±0.056

4 结论

山茱萸乙醇提取物经过多种色谱技术和波谱学方法, 从活性部位分离鉴定了 5 个化合物, 分别为 7-β-O-乙基莫诺昔 (1)、7-α-O-乙基莫诺昔 (2)、3-O-咖啡酰奎宁酸甲酯 (3)、(7R, 9R, 10R)-3,9-dihydroxicalamenone (4)、吐叶醇 (5), 其中化合物 3、4 和 5 为首次从该属中分离得到; 通过 DPPH 自由基清除试验和 FRAP 试验对分离得到的化合物的抗氧化活性进行测定, 发现化合物 1~3 具有一定的抗氧化活性。山茱萸中富含环烯醚萜类成分, 文献报道山茱萸中含量较大的成分莫诺昔和马钱子苷具有一定的抗氧化活性^[22], 而化合物 1 和 2 为莫诺昔的同类型化合物, 也具有一定的抗氧化活性, 说明山茱萸中除含量较大的莫诺昔和马钱子苷外, 还存在活性较好的其它化合物, 提示可以继续对显示抗氧化活性的其它组分进行深入的研究, 明确山茱萸的抗氧化活性组成, 为山茱萸作为天然抗氧化剂的来源提供科学依据, 为后续山茱萸作为食用抗氧化剂的质量标准制定提供基础数据。

参考文献

- [1] 王中雷,杨丽燕,张小华,等.天然抗氧化活性成分研究进展[J].药物评价研究,2012,35(5):386-390
WANG Zhong-lei, YANG Li-yan, ZHANG Xiao-hua, et al. Research progress on active anti-oxidative compounds from natural products [J]. Drug Evaluation Research, 2012, 35(5): 386-390
- [2] 张献忠,黄海智,钟烈洲,等.植物提取物体外抗氧化活性评价方法研究进展[J].中国粮油学报,2012,27(11):122-128
ZHANG Xian-zhong, HUANG Hai-zhi, ZHONG Lie-zhou, et al. Research progress of assessment methods of the antioxidant activity of plant extracts *in vitro* [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2012, 27(11): 122-128
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1990
China Flora Editorial Board (Chinese Academy of sciences), Flora of China [M]. Beijing: Science Press, 1990
- [4] 国家药典委员会.中国药典.一部[M].中国医药科技出版社,2015
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, vol. 1 [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015
- [5] 叶贤胜,赫军,张佳琳,等.山茱萸的化学成分研究[J].中国中药杂志,2016,41(24):4605-4609
YE Xian-sheng, HE Jun, ZHANG Jia-lin, et al. Chemical constituents from ripe fruits of *Cornus officinalis* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(24): 4605-4609
- [6] Li Y C, Yang J, Li J K, et al. Two new secoiridoid glucosides from the twigs of *Cornus officinalis* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2016, 52(4): 647-650
- [7] 刘博,吴和珍.山茱萸药材中三萜类成分的研究[J].湖北中医杂志,2010,32(12):75-76
LIU Bo, WU He-zhen. The study of triterpenoid from *Cornus officinalis* [J]. Hubei Journal of TCM, 2010, 32(12): 75-76
- [8] Ye X S, He J, Cheng Y C, et al. Cornusides A-O, bioactive iridoid glucoside dimers from the fruit of *Cornus officinalis* [J]. Journal of Natural Products, 2017, 80: 3103-3111
- [9] Huang J, Zhang Y W, Dong L, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Coruns officnalis* Sieb. et Zucc [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 213: 280-301
- [10] Kim H J, Kim Y C. Antidiabetic and renoprotective effectives of Corni Furctus extract in db/db mice [J]. Molecular & Cellular Toxicology, 2010, 6(2): 135-142
- [11] Zhao L H, Ding Y X, Zhang L L, et al. Cornel iridoid glycoside improves memory ability and promotes neuronal survival in fimbria-fornix transected rats [J]. European Journal of Pharmacology, 2010, 647: 68-74
- [12] Arichi S R, Uchida Y, Fujikawa A, et al. Antioxidant prepared from alcohol extract of specified plant [P]. Japan, 1985, JP60042485A
- [13] 张艳萍,戴志远.山茱萸提取物不同极性部位体外抗氧化活性研究[J].中国粮油学报,2009,24(3):98-102
ZHANG Yan-ping, DAI Zhi-yuan. Antioxidant activity of extracts from *Cornus* [J]. Journal of Chinese Cereals and Oil Association, 2009, 24(3): 98-102
- [14] Hwang K A, Hwang Y J, Song J. Antioxidant activities and oxidative stress inhibitory effects of ethanol extracts from *Cornus officinalis* on raw 264.7 cells [J]. BMC Complement & Alternative Medicine, 2016, 16(1): 1-9
- [15] Kim H Y, Kim B H, Kim Y C. Antioxidative action of corni fructus aqueous extract on kidneys of diabetic mice [J]. Toxicological Research, 2011, 27(1): 37-41
- [16] Shen Y B, Zhang H, Cheng L L, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland Barley [J]. Food Chemistry, 2016, 194: 1003-1012
- [17] 杨炳友,宋丹丹,韩华,等.接骨木根皮的化学成分研究 (I) [J].中草药,2014,45(10):1367-1372
YANG Bing-you, SONG Dan-dan, HAN Hua, et al. Chemical constituents from roots of *Sambucus williamsii* (I) [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2014, 45(10): 1367-1372
- [18] 刘春力,段莹辉,戴毅,等.甘松根茎化学成分研究[J].中药材,2011,34(8):1216-1229
LIU Chun-li, DUAN Ying-hui, DAI Yi, et al. Study on the chemical constituents of roots and stems of *Nafdestachys chinensis* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2011, 34(8): 1216-1229
- [19] Lisinela M Z, Vanderlan S B, Alberto J C, et al. Sesquiterpenes produced by endophytic fungus *Phomopsis cassia* with antifungal and acetylcholinesterase inhibition activities [J]. Quim Nova, 2012, 35: 2233-2236
- [20] Siddiqui B S, Kardar M N, Ali S T, et al. Two new and a known compounds from *Lawsonia inermis* [J]. Helvetica Chimica Acta, 2003, 86: 2164-2169