

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2020.40543

甄兆孟, 庄小翠, 刘叶, 陈桂林, 郭明全. 非洲白参的抗氧化活性及其化学成分研究[J]. 植物科学学报, 2020, 38(4): 543-550

Zhen ZM, Zhuang XC, Liu Y, Chen GL, Guo MQ. Antioxidant activities and chemical constituents of roots of *Mondia whiteii* (Hook. f.) Skeels[J]. *Plant Science Journal*, 2020, 38(4): 543-550

非洲白参的抗氧化活性及其化学成分研究

甄兆孟^{1,2,4}, 庄小翠^{1,2,4}, 刘叶^{1,2,3}, 陈桂林^{1,2,3}, 郭明全^{1,2,3*}

(1. 中国科学院武汉植物园植物种质创新与特色农业重点实验室, 武汉 430074; 2. 中国科学院中-非联合研究中心, 武汉 430074; 3. 中国科学院药物创新研究院, 上海 201203; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 采用 DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼)、ABTS(2,2-联氮-双-3-乙基苯并噻唑-6-磺酸) 自由基清除法和 FRAP(铁离子还原/抗氧化能力)法对非洲白参(*Mondia whiteii* (Hook. f.) Skeels) 不同萃取部位的抗氧化活性进行分析, 然后采用紫外分光光度法和福林酚比色法分别测定非洲白参不同萃取部位的总黄酮、总酚含量, 最后采用大孔树脂 AB-8、ODS 以及 Sephadex LH-20 柱层析和半制备型 HPLC 等色谱分离技术对其二氯甲烷萃取部位的化学成分进行分离、纯化。结果显示: 非洲白参二氯甲烷萃取部位抗氧化活性最高, 且二氯甲烷萃取部位的总酚含量远高于其他部位; 化学成分分离、纯化后得到 10 个单体化合物, 分别为: 2-羟基-4-甲氧基苯甲醛(1)、秦皮素(2)、7-甲氧基香豆素(3)、 α -羟基丁香丙酮(4)、 ω -hydroxypropioquiainone(5)、桂皮酸(6)、水杨酸(7)、4-甲氧基水杨酸(8)、丁香酸(9)、壬二酸(10)。其中, 化合物 3 ~ 10 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 非洲白参; 抗氧化; 化学成分; 分离纯化

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2020)04-0543-08

Antioxidant activities and chemical constituents of roots of *Mondia whiteii* (Hook. f.) Skeels

Zhen Zhao-Meng^{1,2,4}, Zhuang Xiao-Cui^{1,2,4}, Liu Ye^{1,3,4}, Chen Gui-Lin^{1,3,4}, Guo Ming-Quan^{1,3,4*}

(1. Key Laboratory of Plant Germplasm Enhancement and Specialty Agriculture, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; 2. Sino-Africa Joint Research Center, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China; 3. Innovation Academy for Drug Discovery and Development, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The antioxidant activities of different fractions of *Mondia whiteii* (Hook. f.) Skeels were measured by using three different assays (DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) and FRAP (Ferric-Reducing Antioxidant Power), respectively). Total flavonoid and total phenol contents were also tested, and the chemical constituents of the dichloromethane fraction were further isolated and purified by AB-8 macroporous resin column chromatography (CC), Octadecylsilyl (ODSCC), Sephadex LH-20CC, and preparative-HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Results showed that the dichloromethane fraction had the highest antioxidant activities and total phenol content. Furthermore, 10 compounds were obtained

收稿日期: 2019-11-30, 退修日期: 2020-01-12。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81903791); 湖北省对外科技合作技术创新专项(2017AHB054); 湖北省自然科学基金项目(2019CFB254)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (81903791), Major Project for Special Technology Innovation of Hubei Province-Sino-Foreign Cooperation Project (2017AHB054), and Natural Science Foundation of Hubei Province (2019CFB254).

作者简介: 甄兆孟(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物化学(E-mail: zhenzhaomeng19@163.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: guomq@wbgcas.cn)。

and identified, including 2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde (1), fraxetin (2), 7-methoxycoumarin (3), α -hydroxypropiosyringone (4), ω -hydroxypropioiguaiacone (5), cinnamic acid (6), salicylic acid (7), 4-methoxysalicylic acid (8), syringic acid (9), and azelaic acid (10). To the best of our knowledge, this study is the first to isolate compounds 3–10 from *Mondia whiteii*.

Key words: *Mondia whiteii*; Antioxidant activities; Chemical constituents; Isolation

非洲白参(*Mondia whiteii* (Hook. f.) Skeels), 为木质藤本植物, 属于夹竹桃科、利食藤属, 此属有两个种, 另一种为 *M. ecornuta* (N. E. Br.) Bullock^[1]。广泛分布于非洲潮湿的热带和亚热带地区^[1], 我国台湾地区于 2002 年自南非引进栽培, 现已顺利驯化并成功开花结果^[2]。非洲白参作为非洲特有物种, 具有很高的药用和营养价值。药用方面, 可作为温和的泻药, 同时也可治疗性功能障碍、发烧等疾病, 营养方面, 它的根、叶可作为食物、调味品、饮料等^[3]。现代药理学研究也证明非洲白参具有抗氧化^[4, 5]、治疗性功能障碍^[6]、抗抑郁^[7]等方面的作用。目前, 从非洲白参中已分离鉴定出的化学成分主要有酚类、香豆素类、甾体类、萜类、黄酮类、挥发油类等^[3, 8, 9]。

随着人们生活水平的提高, 对健康的重视程度也越来越高, 如何保健成为关注的热点, 其中抗氧化便是最重要的部分之一^[10]。人体在正常代谢过程中, 会不断产生氧自由基, 正常生理情况下, 氧自由基的产生与清除总是保持相对平衡的状态, 不会损伤细胞, 如果这种平衡丧失, 自由基的产生多于清除, 便会引起各种细胞组织损伤, 称之为氧化应激。氧化应激与许多疾病的发生、发展都有重要关系, 如衰老、炎症、肿瘤、心血管疾病等^[10, 11]。因此各种外源性抗氧化物, 即抗氧化剂应运而生, 其中天然抗氧化剂因相对安全广受人们欢迎, 它们主要以各种抗氧化维生素、酶及其组成的微量元素、多酚类、类黄酮、酚酸类、花色苷类等为主^[11]。

目前针对非洲白参的抗氧化方面的研究较少, 多集中于其水提物和醇提物的研究^[4, 5], 且方法单一, 还未涉及非洲白参提取物不同萃取部位抗氧化活性和相关化学成分的深入研究。因此, 本研究选取 DPPH、ABTS 自由基清除法和 FRAP 法 3 种体外抗氧化方法对非洲白参的抗氧化能力进行测定, 同时测定有抗氧化能力的化学成分的总酚和总黄酮含量, 从中筛选出非洲白参根部抗氧化的有效萃取

部位, 然后对该部位进行分离, 以期为开发和利用非洲白参功能性成分的相关研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

非洲白参根部于 2018 年 5 月采集于肯尼亚山 (Mount Kenya, Kenya), 材料经中国科学院武汉植物园胡光万研究员鉴定, 样品保存于中国科学院武汉植物园标本馆。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的提取

取干燥的非洲白参根 5 kg, 粉碎后用 90% 乙醇冷浸提取 4 次, 提取液减压浓缩得到总提物浸膏。浸膏均匀分散在水中, 依次用石油醚、二氯甲烷、正丁醇进行萃取, 得到石油醚萃取部位、二氯甲烷萃取部位、正丁醇萃取部位、水萃取部位 4 个不同样品。每个部位包括总提物各留取约 2 g 用于生物活性实验, 剩下的用于分离化学成分。

1.2.2 抗氧化实验

(1) DPPH 自由基清除实验

非洲白参不同萃取部位的 DPPH (1,1-二苯基-2-三硝基苯肼) 自由基清除实验参考 Chen 等^[12]的方法。将 10 μ L 待测样品溶液和 190 μ L DPPH 甲醇溶液在 96 孔板中混合, 在室温下避光反应 30 min, 然后用酶标仪 (Tecan Infinite M200 PRO) 在 517 nm 波长下测定吸光值。每个样品和对照均做 3 次重复, 并且做不同浓度梯度来计算 IC_{50} 值。DPPH 自由基清除率计算公式为: $DPPH \text{ 自由基清除率}(\%) = (OD_C - OD_S) / OD_C \times 100$ 。式中, OD_C 为空白对照的吸光值, OD_S 为待测样品和阳性对照的吸光值。 IC_{50} 为当 DPPH 自由基清除率达到 50% 时的浓度值。

(2) ABTS 自由基清除实验

非洲白参不同萃取部位的 ABTS (2,2-联氮-双-3-乙基苯并噻唑-6-磺酸) 清除实验参考 Zhu 等^[13]

的方法。首先,制备 ABTS 工作液:7 mmol/L 的 ABTS 水溶液与 4.9 mmol/L 的过硫酸钾水溶液等量混合,在室温下避光反应 12 ~ 16 h,实验中 ABTS 工作液需要稀释到在 734 nm 下吸光值为 0.700 ± 0.100 。然后,将 10 μL 待测样品溶液(甲醇溶解)和 190 μL ABTS 工作溶液在 96 孔板中混合,在室温下避光反应 30 min,然后用酶标仪在 734 nm 波长下测定吸光值。每个样品和对照均做 3 次重复,并且做不同浓度梯度来计算 IC_{50} 值。清除率计算公式同上。

(3) FRAP 实验

非洲白参不同萃取部位的 FRAP 实验参考 Xu 等^[14]的方法。首先,制备 FRAP 工作液(即 Fe^{3+} -TPTZ 溶液):将 20 mmol/L $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液、10 mmol/L TPTZ(三吡啶基三嗪)盐酸溶液和 300 mmol/L 醋酸盐缓冲液(pH 3.6)按 1:1:10 体积比配制。然后在 96 孔板中,依次加入 10 μL 待测样品溶液、30 μL 纯水和 260 μL 新鲜 Fe^{3+} -TPTZ 溶液,在 37 $^\circ\text{C}$ 下孵育 10 min 后,用酶标仪在 593 nm 波长下测定吸光值。每个样品和对照均做 3 次重复,标准曲线用 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1.5、1.2、0.9、0.6、0.3、0.15 mmol/L) 建立,FRAP 活性用 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示。

1.2.3 总黄酮含量测定

非洲白参不同萃取部位总黄酮含量的测定参考 Xu 等^[14]的方法。首先,在试管中分别加入待测样品溶液 60、360 μL 甲醇,然后加入 20 μL 的 5% NaNO_2 溶液,混合摇匀。静置 6 min 后加入 40 μL 的 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液,摇匀、静置 6 min,接着加入 120 μL 的 4% NaOH 溶液,15 min 后用紫外分光光度计(UV-1100)在 510 nm 波长下测定吸光值。每个样品均重复 3 次,标准曲线用芦丁(1.5、1.2、0.9、0.6、0.3、0.15 mmol/L) 建立,总黄酮含量用 mg RE/g(RE 为芦丁当量)表示。

1.2.4 总酚含量测定

非洲白参不同萃取部位总酚含量的测定参考 Garzón 等^[15]的方法。吸取 0.2 mL 待测样品溶液,与 0.2 mL 0.25 mol/L 的 Folin 酚试剂、1 mL 1 mol/L 的 Na_2CO_3 溶液和 0.6 mL 纯水充分混匀,室温下静置 1 h 后用紫外分光光度计在 760 nm 波长下测定吸光值。每个样品均做 3 次重复,标准曲线用没食子酸(0、10、20、30、40、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

建立,总酚含量用 mg GAE/g(GAE 为没食子酸当量)表示。

1.2.5 化合物分离

由上述抗氧化活性实验结果可知,二氯甲烷部位具有最高的抗氧化活性,因此实验的分离主要集中在非洲白参二氯甲烷部位。二氯甲烷部位(118 g)过大孔树脂柱色谱,以乙醇-水(25% ~ 90%)梯度洗脱得到 A(10.6 g)、B(12.5 g)、C(14.5 g)、D(13.3 g)和 E(6.7 g)5 个组分。

A 组分(10.6 g)经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(10% ~ 50%)梯度洗脱得到 7 个组分(A1 ~ A7); A2 组分(2.02 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离(甲醇洗脱),得到 5 个组分(A2-1 ~ A2-5),其中 A2-3(212.7 mg)经半制备 HPLC(乙腈-水,5%)得化合物 4(7.3 mg, $R_t = 30$ min)和化合物 5(6.0 mg, $R_t = 33$ min)(R_t 为保留时间); A2-4(229.4 mg)经半制备 HPLC(乙腈-水,15%)得到化合物 9(54.2 mg, $R_t = 11$ min); A3 组分(1.08 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离(甲醇洗脱),得到 4 个组分(A3-1 ~ A3-4),A3-3(258.2 mg)经半制备 HPLC(甲醇-水,30%)得化合物 2(128.6 mg, $R_t = 13.5$ min)。

B 组分(12.5 g)经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(10% ~ 60%)梯度洗脱得到 7 个组分(B1 ~ B7); 其中 B5(2.34 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离(甲醇洗脱)和半制备 HPLC(乙腈-水,18%)得化合物 10(31.8 mg, $R_t = 26$ min),而 B6(2.96 g)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离(甲醇洗脱)和半制备 HPLC(乙腈-水,25%)得化合物 7(7.9 mg, $R_t = 17.5$ min)。

C 组分(14.5 g)经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(20% ~ 60%)梯度洗脱得到 5 个组分(C1 ~ C5),其中 C2 组分干燥一段时间后析出化合物 8。

D 组分(13.3 g)经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(40% ~ 80%)梯度洗脱得到 8 个组分(D1 ~ D8),D1 组分(594.7 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离(甲醇洗脱)和半制备 HPLC(甲醇-水梯度洗脱,0 ~ 25 min: 20% ~ 55%, 25 ~ 35 min: 55%)得化合物 3(4.5 mg, $R_t = 25.5$ min); D2 组分(551.8 mg)经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离(甲醇洗脱)和半制备 HPLC(乙腈-水,35%)得化合物 6(121.5 mg, $R_t = 12$ min)。白参石油醚

部位浓缩干燥后,置于 4℃冰箱一段时间后析出化合物 1。

1.2.6 数据分析

数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 非洲白参的抗氧化活性

非洲白参不同萃取部位的抗氧化活性实验结果显示(表 1), DPPH 法测定的抗氧化能力由强到弱依次为:二氯甲烷相 > 正丁醇相 > 总提物 > 水相 > 石油醚相,其中二氯甲烷部位对 DPPH 自由基的清除能力最强($IC_{50} = 101.81 \pm 2.13 \mu\text{g/mL}$),石油醚相最弱($IC_{50} = 1441.22 \pm 172.03 \mu\text{g/mL}$)。ABTS 法测定的抗氧化能力由强到弱依次为:二氯甲烷相 > 正丁醇相 > 总提物 > 石油醚相 > 水相,其中二氯甲烷部位对 ABTS 自由基的清除能力最强($IC_{50} = 36.73 \pm 1.13 \mu\text{g/mL}$),水相最弱($IC_{50} = 440.30 \pm 11.25 \mu\text{g/mL}$)。FRAP 法测定总抗氧化能力的原理是酸性条件下,样品中的抗氧化物可以还原 Fe^{3+} -TPTZ 产生蓝色的 Fe^{2+} -TPTZ,测定 Fe^{2+} -TPTZ 即可获得样品的总抗氧化能力,值越大代表抗氧化能力越强。FRAP 法测定的抗氧化能力由强到弱依次为:二氯甲烷相 > 正丁醇相 > 总提物 > 石油醚相 > 水相,其中二氯甲烷部位的抗氧化能力最强($0.98 \pm 0.13 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1}$),水相最弱($0.12 \pm 0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1}$)。综上 3 种方法测得的结果可知,非洲白参二氯甲烷萃取部位的抗氧化活性最强。

2.2 总黄酮、总酚含量测定

总黄酮、总酚含量测定结果显示(表 1),非洲白参不同萃取部位的总黄酮含量由高到低依次为:正丁醇相 > 二氯甲烷相 > 总提物 > 石油醚相 > 水相,其中最高的是正丁醇相($80.08 \pm 0.19 \text{ mg RE/g}$),略高于二氯甲烷相($76.71 \pm 0.40 \text{ mg RE/g}$),最低的是水相($14.13 \pm 0.40 \text{ mg RE/g}$)。总酚含量由高到低依次为:二氯甲烷相 > 正丁醇相 > 总提物 > 石油醚相 > 水相,其中最高的是二氯甲烷相($136.50 \pm 6.22 \text{ mg GAE/g}$),最低的是水相($12.93 \pm 0.74 \text{ mg GAE/g}$)。

2.3 非洲白参抗氧化活性与其化学成分之间的相关性

本研究进一步对非洲白参抗氧化活性与总酚、总黄酮含量之间的相关性进行分析,结果显示(表 2),DPPH、ABTS、FRAP 这 3 种实验结果均呈极显著相关,说明 3 种实验方法是可靠且可互换的。DPPH 与 ABTS、FRAP 的相关系数 R^2 分别为:0.66 和 -0.83 ($P < 0.01$); ABTS 和 FRAP 的相关系数 R^2 为 -0.84 ($P < 0.01$)。总黄酮、总酚之间的相关系数为 0.73 ($P < 0.01$),为极显著相关。总酚与 3 种抗氧化实验方法之间的相关系数分别为 -0.65、-0.82 和 0.93,相关性达到极显著水平,并且总酚与 FRAP 之间的相关系数高达 0.93,说明总酚对抗氧化活性贡献很大;总黄酮与 3 种抗氧化实验方法之间也呈显著相关,说明这两种化学成分对植物的抗氧化能力具有重要贡献,这与 Zou 等^[16]的研究结果一致。

表 1 非洲白参不同萃取部位的抗氧化活性和总黄酮、总酚含量

Table 1 Total flavonoid and phenol contents and antioxidant activities of different extracts of *Mondia whiteii*

样品 Sample	DPPH (IC_{50}) ($\mu\text{g/mL}$)	ABTS (IC_{50}) ($\mu\text{g/mL}$)	FRAP ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Fe}^{2+} \cdot \text{g}^{-1}$)	总黄酮含量 TFC (mg RE/g)	总酚含量 TPC (mg GAE/g)
总提物	237.59 ± 12.41b	188.55 ± 6.16d	0.54 ± 0.01ab	23.29 ± 0.40a	56.14 ± 2.58c
石油醚相	1441.22 ± 172.03d	207.37 ± 6.77d	0.21 ± 0.00a	17.54 ± 1.11b	39.27 ± 0.53b
二氯甲烷相	101.81 ± 2.13ab	36.73 ± 1.13b	0.98 ± 0.13b	76.71 ± 0.40c	136.50 ± 6.22d
正丁醇相	143.62 ± 11.68b	82.71 ± 2.36c	0.60 ± 0.06ab	80.08 ± 0.19d	58.08 ± 2.24c
水相	1058.72 ± 27.24c	440.30 ± 11.25e	0.12 ± 0.01a	14.13 ± 0.40e	12.93 ± 0.74a
Trolox	4.36 ± 0.40a	4.84 ± 0.12a	2.22 ± 0.32c	-	-
抗坏血酸	2.04 ± 0.07a	4.11 ± 0.17a	2.30 ± 0.52c	-	-

注:同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。 IC_{50} 表示半数抑制浓度。

Notes: Lowercase letters after peer data indicate significant differences ($P < 0.05$). IC_{50} means half maximal inhibitory concentration.

表2 抗氧化活性与植物化学成分之间的相关系数

Table 2 Pearson correlation coefficients (R^2) between antioxidant activity and phytochemical content

项目 Item	ABTS	FRAP	总黄酮 Total flavonoids	总酚 Total phenols
DPPH	0.659 **	-0.828 **	-0.745 **	-0.653 **
ABTS		-0.841 **	-0.809 **	-0.816 **
FRAP			0.809 **	0.928 **
总黄酮				0.730 **

注: ** 表示在 0.01 水平上极显著相关。

Note: ** correlation is significant at 0.01 level.

2.4 化合物结构鉴定

本研究采用大孔树脂 AB-8、ODS 和 Sephadex LH-20 柱层析和半制备型 HPLC (汉邦 NS4205) 等色谱分离技术对非洲白参的化学成分进行分离、纯化, 得到 10 个化合物, 并运用 NMR (核磁共振波谱) 等技术对其结构进行了鉴定 (图 1)。

化合物 1: $C_8H_8O_3$, 白色针晶, 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 9.82 (1H, s, CHO), 7.61 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.62 (1H, dd, $J=2.3, 8.7$ Hz, H-5), 6.48 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3), 3.90 (3H, s, 4-OCH₃)。以上 NMR 数据与文献^[17]报道基本一致, 故鉴定该化合物为 2-羟基-4-甲氧基苯甲醛。

化合物 2: $C_{10}H_8O_5$, 淡黄色粉末, 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.84 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 6.72 (1H, s, H-5), 6.22 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 3.91 (3H, s, 6-OCH₃)。 ^{13}C -NMR

(CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[18]报道基本一致, 故鉴定该化合物为秦皮素。

化合物 3: $C_{10}H_8O_3$, 黄色油状物, 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.89 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-4), 7.54 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5), 6.94 (1H, dd, $J=8.6, 2.0$ Hz, H-6), 6.91 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.25 (1H, d, $J=9.5$ Hz, H-3), 3.90 (3H, s, 7-OCH₃)。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[19]报道基本一致, 故鉴定该化合物为 7-甲氧基香豆素。

化合物 4: $C_{11}H_{14}O_5$, 白色粉末, 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.35 (2H, s, H-2, H-6), 5.21 (1H, q, $J=6.9$ Hz, H-8), 3.93 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 1.43 (3H, d, $J=6.9$ Hz, H-9)。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[20]报道基本一致, 故鉴定该化合物为 α -羟基丁香丙酮。

化合物 5: $C_{10}H_{12}O_4$, 无色油状物, 1H -NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.60 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-6), 7.57 (1H, s, H-2), 6.89 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5), 3.96 (2H, t, $J=6.2$ Hz, H-9), 3.93 (3H, s, 6-OCH₃), 3.18 (2H, t, $J=6.2$ Hz, H-8)。 ^{13}C -NMR (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[21]报道基本一致, 故鉴定该化合物为 ω -hydroxypropioguaiacone。

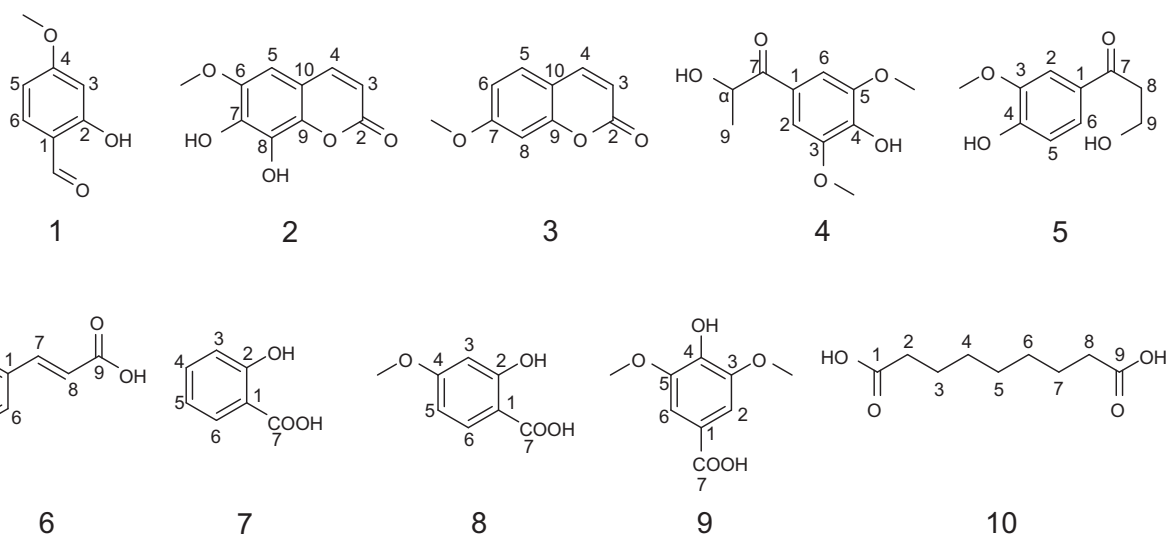


图1 已分离化合物的结构

Fig. 1 Structure of isolated compounds

表 3 化合物 2~10 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据
Table 3 $^{13}\text{C-NMR}$ data of compounds 2-10

碳位 Carbon position	化合物 Compounds								
	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	-	-	126.2	130.6	135.7	114.2	106.8	121.8	177.7
2	163.7	164.7	107.7	111.9	129.1	163.2	165.4	108.2	34.9
3	112.7	113.9	149.1	153.3	129.9	118.1	101.6	148.7	26.0
4	146.7	145.8	142.9	149.1	131.3	136.4	167.1	141.6	30.0
5	101.1	130.4	149.1	115.8	129.9	120.0	107.9	148.7	30.0
6	147.1	113.3	107.7	124.7	129.1	131.5	132.9	108.2	30.0
7	140.7	163.4	201.9	199.7	146.3	173.7	173.4	169.9	26.0
8	134.0	101.7	70.0	41.7	119.3	-	-	-	34.9
9	140.6	157.2	22.0	58.9	170.3	-	-	-	177.7
OCH ₃	56.8	56.4	56.9	56.4	-	-	56.0	56.7	-

化合物 6: $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$, 白色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.67 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.56 (2H, m, H-2, H-6), 7.39 (3H, m, H-3, H-4, H-5), 6.48 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[22]报道基本一致, 故鉴定该化合物为桂皮酸。

化合物 7: $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$, 白色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.83 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6), 7.42 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-4), 6.89 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-3), 6.85 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-5)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[23]报道基本一致, 故鉴定该化合物为水杨酸。

化合物 8: $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$, 白色针晶, $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.77 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 6.47 (1H, dd, $J = 2.5, 8.8$ Hz, H-5), 6.44 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3), 3.83 (3H, s, 4-OCH₃)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[24]报道基本一致, 故鉴定该化合物为 4-甲氧基水杨酸。

化合物 9: $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$, 白色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.23 (2H, s, H-3, H-5), 3.78 (6H, s, 2, 6-OCH₃)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[25]报道基本一致, 故鉴定该化合物为丁香酸。

化合物 10: $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$, 白色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ : 2.21 (4H, t, $J = 7.4$ Hz, H-2, H-8), 1.54 (4H, m, H-3, H-7), 1.29

(6H, m, H-4, H-5, H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) 数据见表 3。以上 NMR 数据与文献^[26]报道基本一致, 故鉴定该化合物为壬二酸。

3 讨论

Gbadamosi 等^[5]采用 DPPH 法对非洲白参的根和叶的抗氧化活性进行了比较, 发现根部的抗氧化能力比叶的好。本实验采用 3 种方法对非洲白参根部不同萃取部位的抗氧化活性进行了探究, 结果显示二氯甲烷部位的抗氧化活性最高, 证明非洲白参提取物抗氧化的有效部位为二氯甲烷部位。谢超^[27]的研究表明, 神农香菊 (*Dendranthema indicum* var. *aromaticum* Q. H. Liu et S. F. Zhang) 的二氯甲烷萃取部位抗氧化活性最好。朴香淑等^[28]对中药连翘 (*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl.) 不同萃取部位的抗氧化活性进行了测定, 发现二氯甲烷萃取部位抗氧化活性最好。彭芍丹等^[29]研究发现, 菠萝蜜 (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) 果皮乙酸乙酯部位具有最好的抗氧化活性。说明抗氧化的有效部位多集中于中等极性部位。

通过总黄酮、总酚这两种植物化学有效成分含量的测定, 本研究发现它们主要富集在非洲白参的二氯甲烷和正丁醇部位, 尤其是二氯甲烷部位, 相关性分析结果也显示它们之间为显著相关, 说明黄酮和多酚的存在对抗氧化活性的贡献较为重要, 也进一步证明二氯甲烷部位是其抗氧化的有效部位, 萃取对非洲白参的抗氧化活性物质起到了一定的富集作用^[30]。

根据抗氧化测定结果, 本研究进一步对二氯甲

烷部位进行分离, 得到了 10 个化合物, 包括酚类、香豆素类、脂肪酸类等, 其中化合物 3 ~ 10 是首次从非洲白参中分离得到。Murthy 等^[31]的研究表明, 2-羟基-4-甲氧基苯甲醛(化合物 1) 在 100 mg/L 的浓度下对 DPPH 自由基清除率达到 69.64%, 对羟基自由基清除率达到 73.60%; 耿雪飞等^[32]基于 HPLC-ABTS 体系筛选出细叶杜香 (*Ledum palustre* L.) 抗氧化活性成分包括秦皮素(化合物 2); 马翠霞等^[33]测得水杨酸(化合物 7) 对 DPPH 和 ABTS 自由基的清除 IC_{50} 分别为 28.03 和 23.77 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 张雪等^[34]通过 DPPH 法和氧自由基清除法测得丁香酸(化合物 9) 的抗氧化活性均强于维生素 C。因此, 本研究推测化合物 1、2、7、9 的存在为非洲白参的抗氧化活性起到了一定的作用, 但其他化合物的抗氧化活性还有待进一步鉴定。

参考文献:

- [1] Venter HJT, Verhoeven RL, Bruyns PV. Morphology and taxonomy of *Mondia* (Apocynaceae; Periplocoideae) [J]. *S Afr J Bot*, 2009, 75(3): 456–465.
- [2] 郭肇凯, 张隆仁, 陈荣五, 廖俊旺. 新引进药用植物 VUKA (*Mondia whitei*) 对小鼠喂饲之安全性评估[J]. 台中区农业改良场研究学报, 2006(91): 21–29.
- Guo ZK, Zhang LR, Chen RW, Liao JW. Safety evaluation of feeding a newly introduced medicinal plant VUKA (*Mondia whitei*) to mice [J]. *Journal of Agricultural Improvement Field Research in Taizhong District*, 2006(91): 21–29.
- [3] Aremu AO, Cheesman L, Finnie JF, Staden JV. *Mondia whitei* (Apocynaceae): a review of its biological activities, conservation strategies and economic potential [J]. *S Afr J Bot*, 2011, 77(4): 960–971.
- [4] Afanyibo YG, Esseh K, Idoh K, Koudouvo K, Agbonon A, Gbeassor M. Toxicity and antioxidant activity of *Syzygium aromaticum*, *Mondia whitei*, *Carissa spinarum* and *Caesalpinia bonduc* [J]. *J Phytopharm*, 2019, 8(3): 124–128.
- [5] Gbadamosi I, Erinoso S. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Mondia whitei* (Hook. f.) Skeels [J]. *J Basic Appl Sci*, 2015, 11: 428–433.
- [6] Watcho P, Defo PBD, Wankeu-Nya M, Carro-Juarez M, Nguelefack TB, Kamanyi A. *Mondia whitei* (Periplocaaceae) prevents and *Guibourtia tessmannii* (Caesalpiniaaceae) facilitates fictive ejaculation in spinal male rats [J]. *BMC Complementary Altern Med*, 2013, 13(1): 1–9.
- [7] Oketch-Rabah HA. *Mondia whitei*, a medicinal plant from Africa with aphrodisiac and antidepressant properties; a review [J]. *J Diet Suppl*, 2012, 9(4): 272–284.
- [8] 罗竣隆. *Mondia whitei* 根部活性成分之探讨 [D]. 台北: 台北医学大学生药学研究所, 2009.
- [9] Gbadamosi IT, Aboaba SA. Essential oil constituents and *in vitro* antimicrobial activity of the root of *Mondia whitei* (Hook. f.) Skeels (Periplocaaceae) [J]. *J Pharmacogn Phytother*, 2016, 8(8): 163–167.
- [10] 刘耕陶. 天然抗氧化剂与人类健康 [J]. 中国科技信息, 2003(11): 7–8.
- Liu GT. Natural antioxidants and human health [J]. *China Science and Technology Information*, 2003(11): 7–8.
- [11] 凌关庭. 抗氧化食品与健康 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [12] Chen GL, Fan MX, Wu JL, Li N, Guo MQ. Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule [J]. *Food Chem*, 2019, 277: 706–712.
- [13] Zhu MZ, Wu W, Jiao LL, Yang PF, Guo MQ. Analysis of flavonoids in lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves and their antioxidant activity using macroporous resin chromatography coupled with LC-MS/MS and antioxidant biochemical assays [J]. *Molecules*, 2015, 20(6): 10553–10565.
- [14] Xu YB, Chen GL, Guo MQ. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the crude extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and their correlations with flavonoids [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(8): 296.
- [15] Garzón GA, Narv Na-Cuenca CE, Vincken JP, Gruppen H. Polyphenolic composition and antioxidant activity of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) from Colombia [J]. *Food Chem*, 2017, 217: 364–372.
- [16] Zou Y, Chang SK, Gu Y, Qian SY. Antioxidant activity and phenolic compositions of lentil (*Lens culinaris* var. Morton) extract and its fractions [J]. *J Agr Food Chem*, 2011, 59(6): 2268–2276.
- [17] Mukonyi KW, Ndiege IO. 2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde: Aromatic taste modifying compound from *Mondia whytei* Skeels [J]. *Bull Chem Soc Ethiop*, 2001, 15(2): 137–141.
- [18] Okuyama E, Okamoto Y, Yamazaki M, Satake M. Pharmacologically active components of a peruvian medicinal plant, Huanarpo (*Jatropha ciliata*) [J]. *ChemInform*, 1996, 44(2): 333–336.
- [19] 李红亮, 李俊, 赵海清, 阿吉艾克拜尔艾萨. 新疆千叶薯中化学成分及其抗氧化和抗菌活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(1): 125–131.
- Li HL, Li J, Zhao HQ, Ha AISA. Phytochemical, antioxidant and antibacterial activities of *Achillea millefolium* L. [J]. *Natural Product Research and Development*, 2019, 31(1): 125–131.
- [20] 崔泽旭, 徐崑, 杨秀伟, 李伏君, 龚云, 等. 细叶十大功劳茎

- 水提取物脂溶性部位的化学成分研究[J]. 中草药, 2018, 612(1): 85-94.
- Cui ZX, Xu W, Yang XW, Li FJ, Gong Y, et al. Chemical constituents of lipophilic parts in water extract from stem of *Mahonia fortunei* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2018, 612(1): 85-94.
- [21] 杨佳倩, 贺文军, 谭宁华, 褚洪标, 张玉梅, 等. 头花马先蒿和管花马先蒿的化学成分[J]. 天然产物研究与开发, 2009(4): 56-59.
- Yang JQ, He WJ, Tan NH, Chu HB, Zhang YM, et al. Chemical constituents of *Pedicularis cephalantha* Franch and *P. siphonantha* Don [J]. *Natural Product Research and Development*, 2009(4): 56-59.
- [22] 马学敏, 王力生, 郭亚健, 郭树仁. 活血益气汤中1个新的异黄酮类化合物[J]. 中国中药杂志, 2005(15): 1159-1162.
- Ma XM, Wang LS, Guo YJ, Guo SR. A new isoflavone from Huoxue Yiqi Tang [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2005(15): 1159-1162.
- [23] Xin XL, Aisa HA, Wang HQ. Flavonoids and phenolic compounds from seeds of the Chinese plant *Nigella glandulifera* [J]. *Chem Nat Compd*, 2008, 44(3): 368-369.
- [24] 孟令杰, 刘百联, 张英, 周光雄. 地骨皮化学成分研究[J]. 中草药, 2014, 45(15): 2139-2142.
- Meng LJ, Liu BL, Zhang Y, Zhou GX. Chemical constituents from root bark of *Lycium chinense* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2014, 45(15): 2139-2142.
- [25] Tian X, Guo S, He K, Roller M, Yang M, et al. Qualitative and quantitative analysis of chemical constituents of *Ptychopetalum olacoides* Benth [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(3): 354-357.
- [26] Kong LY, Li Y, Min ZD, Li X, Zhu TR. Coumarins from *Peucedanum praeruptorum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(5): 1423-1426.
- [27] 谢超. 神农香菊抗氧化活性及其应用研究[D]. 武汉: 中医药大学, 2012.
- [28] 朴香淑, 朴香兰, 洪承权, 刘同祥. 中药连翘体外抗氧化作用的研究[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2008, 17(1): 77-80.
- Pu XS, Pu XL, Hong CQ, Liu TX. Studies on antioxidant activities from *Forsythia suspense* in vitro [J]. *Journal of the Central University for Nationalities* (Natural Science Edition), 2008, 17(1): 77-80.
- [29] 彭苻丹, 李积华, 黄晓兵, 静玮, 刘洋洋, 等. 菠萝蜜果皮不同萃取部位抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(20): 82-85.
- Peng SD, Li JH, Huang XB, Jing W, Liu YY, et al. Study on antioxidant activities of different solvent extracts from jackfruit peel [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(20): 82-85.
- [30] 曾桂凤, 肖红斌, 梁鑫森. 一种丹参三七有效部位组合物及制备方法和用途: 200510126487.9 [P]. 2007-06-20.
- [31] Murthy KNC, Rajasekaran T, Giridhar P, Ravishanker GA. Antioxidant property of *Decalepis hamiltonii* Wight & Arn. [J]. *Indian J Exp Biol*, 2006, 44(10): 832-837.
- [32] 耿雪飞, 郑永杰, 赵明, UM Byunghun. 基于HPLC-ABTS体系筛选细叶杜香抗氧化活性成分[J]. 化学工程师, 2011(10): 70-73.
- Geng XF, Zheng YJ, Zhao M, UM Byunghun. Screening of antioxidant components by HPLC-ABTS system in *Ledum palustre* L. [J]. *Chemical Engineer*, 2011(10): 70-73.
- [33] 马翠霞, 刘玉婷, 苗磊, 赵彧, 邵帅, 等. 黄花草木犀抗氧化活性成分研究[J]. 中国药学杂志, 2019, 54(19): 1557-1564.
- Ma CX, Liu YT, Miao L, Zhao H, Shao S, et al. Solation, purification and identification of antioxidant compositions in *Melilotus officinalis* L. [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2019, 54(19): 1557-1564.
- [34] 张雪, 续洁琨, 王乃利, 栗原博, 姚新生, 等. 金钗石斛中联苳类和酚酸类成分的抗氧化活性研究[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(11): 829-832.
- Zhang X, Xu JK, Wang NL, Li YB, Yao XS, et al. Studies on antioxidant activity of Bibenzyls and Phenolic components from *Dendrobium nobile* [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2008, 43(11): 829-832.

(责任编辑: 周媛)