

# 紫花地丁化学成分及抗氧化活性

曹捷, 秦艳, 尹成乐, 程志红\*

(复旦大学药学院生药学教研室, 上海 201203)

**[摘要]** **目的:** 研究中药紫花地丁的化学成分及抗氧化活性。**方法:** 运用多种色谱方法对紫花地丁乙醇提取物的正丁醇萃取物进行分离纯化, 根据化合物的理化性质及波谱数据鉴定其结构, 并采用清除 2,2-二苯基-1-苦肼基自由基 (DPPH) 法测定化合物的抗氧化活性。**结果:** 从该植物中共分离鉴定了 11 个化合物, 分别为山奈酚-3-*O*- $\beta$ -*D*-槐糖-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷(1), 山奈酚-3,7-二-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷(2), 芹菜素-6,8-二-*C*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷(3), 腺苷(4), 秦皮乙素(5), 芹菜素-6-*C*- $\alpha$ -*L*-阿拉伯糖-8-*C*- $\beta$ -*D*-木糖苷(6), 芹菜素-6-*C*- $\beta$ -*D*-葡萄糖-8-*C*- $\alpha$ -*L*-阿拉伯糖苷(7), 芹菜素-6-*C*- $\beta$ -*D*-葡萄糖-8-*C*- $\beta$ -*D*-木糖苷(8), 芹菜素-6,8-二-*C*- $\alpha$ -*L*-阿拉伯糖苷(9), 芹菜素-6-*C*- $\beta$ -*D*-葡萄糖-8-*C*- $\beta$ -*L*-阿拉伯糖苷(10) 和山奈酚-3-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷(11)。对化合物 1~11 清除 DPPH 自由基的能力进行了评价, 结果显示化合物 1~5, 11 均具有一定的抗氧化活性。**结论:** 化合物 2 为首次从该植物中分离得到, 化合物 1 和 8 为首次从堇菜属植物中分离得到。

**[关键词]** 紫花地丁; 化学成分; 抗氧化活性; 2, 2-二苯基-1-苦肼基自由基

**[中图分类号]** R284.1; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0077-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013210077

## Chemical Constituents of *Viola yedoensis* and Their Antioxidant Activity

CAO Jie, QIN Yan, YIN Cheng-le, CHENG Zhi-hong\*

(Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the chemical constituents of *Viola yedoensis* and their antioxidant activity. **Method:** A systematic isolation was performed by various column chromatography with the *n*-butanol fraction of the ethanolic extract of the herb. **Result:** Eleven compounds were isolated and identified as kaempferol-3-*O*- $\beta$ -*D*-sophorosyl-7-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyrano-side (1), kaempferol-3, 7-di-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranoside (2), apigenin-6, 8-di-*C*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (3), adenosine (4), esculetin (5), apigenin-6-*C*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranosyl-8-*C*- $\beta$ -*D*-xylopyranoside (6), apigenin-6-*C*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-8-*C*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranoside (7), apigenin-6-*C*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-8-*C*- $\beta$ -*D*-xylopyranoside (8), apigenin-6, 8-di-*C*- $\alpha$ -*L*-arabinopyranoside (9), apigenin-6-*C*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-8-*C*- $\beta$ -*L*-arabinopyranoside (10) and kaempferol-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranoside (11), respectively. All compounds were evaluated for antioxidant capacity against DPPH radicals, and compounds 1-5 and 11 showed antioxidant activities. **Conclusion:** Compound 2 was reported from *Viola yedoensis* for the first time, and compounds 1 and 8 were the first time to be isolated from the genus *Viola*.

**[Key words]** *Viola yedoensis*; chemical constituents; antioxidant activity; DPPH

紫花地丁为堇菜科植物紫花地丁的干燥带根全草, 味苦、辛, 性寒, 归心、肝经, 具有清热解毒、凉血消肿的功效, 用于治疗黄疸内热、疔疮肿毒、喉痹肿

痛等疾病<sup>[1-3]</sup>。现代药理研究表明, 其具有抗菌、抗炎、抗 HIV、抗凝血、调节免疫等作用<sup>[4-5]</sup>。紫花地丁的化学成分主要有黄酮及其苷类、香豆素及其苷类、

**[收稿日期]** 20130410(022)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81073025); 上海市科委中药现代化专项基金项目(09dz1970100); 教育部留学回国人员基金项目

**[第一作者]** 曹捷, 硕士, 从事中药药效物质基础和质量控制研究, Tel:021-51980134, E-mail:10211030037@fudan.edu.cn

**[通讯作者]** \*程志红, 博士, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础和质量控制研究, Tel:021-51980157, E-mail:chengzh@fudan.edu.cn

甾醇和生物碱等<sup>[3]</sup>。其中黄酮类及香豆素类化合物是紫花地丁最为重要的活性成分。笔者前期研究表明,紫花地丁醇提物正丁醇萃取物具有较好的清除 2,2-二苯基-1-苦肼基自由基 (DPPH) 活性,而文献报道<sup>[6]</sup>该部位含有大量的黄酮碳苷类成分,这些化合物结构相似、极性较大、分离难度较大、结构鉴定需要量大且一般需要在高温下进行测定。因此本研究试图分离鉴定紫花地丁中的黄酮苷类化合物特别是其黄酮碳苷类化合物,并对这些化合物清除 DPPH 自由基活性进行测定。

## 1 材料

Bruker AM-400, 500 MHz 核磁共振仪 (TMS 为内标), 1100 Series LC-MSD Trap 质谱仪 (美国 Agilent 公司), AB135-S 型电子天平 (梅特勒-托利多仪器公司), MULTISKAN MK3 酶标仪 (Thermo 公司), 半制备液相色谱仪 (上海通微分析技术有限公司), 制备色谱柱为 Pronto SIL C<sub>18</sub> (10.0 mm × 250 mm, 10 μm), 200 ~ 300 目柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂), 色谱纯乙腈 (国药集团化学试剂有限公司) DPPH 及 trolox (Sigma 公司), 其他试剂均为分析纯。

紫花地丁购自上海华宇药业有限公司, 经复旦大学药理学教研室程志红博士鉴定为堇菜科植物紫花地丁 *Viola yedoensis* Makino 的干燥带根全草, 凭证标本紫花地丁 (ZHDD-HY2008040309) 保存于复旦大学药学院生药理学教研室。

## 2 提取与分离

紫花地丁粗粉 20 kg, 室温下以 95% 乙醇反复渗漉提取至提取液无色后, 减压回收溶剂, 得到浸膏 812 g。该浸膏用 5 倍量的纯水均匀分散后依次以石油醚 (60 ~ 90 °C)、乙酸乙酯和正丁醇萃取, 分别得到石油醚萃取物 323 g, 乙酸乙酯萃取物 180 g, 正丁醇萃取物 120 g。其中正丁醇萃取物经过硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇 (20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 1:1) 梯度洗脱, 得到 5 个流份 B1 (20:1)、B2 (5:1, 10:1) 和 B3 (1:1, 2:1)。B3 流份再经过 C<sub>18</sub> 反向硅胶柱色谱, 用甲醇-水梯度洗脱, 得到 6 个流份 (B3-1 ~ B3-6)。通过半制备液相色谱, 从 B3-1 分得到化合物 4 (21 mg); 从 B3-2 分得化合物 1 (24 mg) 和 3 (40 mg); 从 B3-3 分得化合物 7 (60 mg); 从 B3-4 分得化合物 9 (56 mg) 和 10 (60 mg); 从 B3-5 分得化合物 6 (16.8 mg), 8 (2 mg) 和 11 (5 mg); 从 B3-6 分得化合物 2 (5 mg)。B1 流份通过半制备液相色谱, 分得化合物 5 (20 mg)。这些化合物中包括 6 个黄酮碳苷类化合物: 3, 6 ~ 10; 3 个黄酮氧苷类化合物: 1, 2

和 11; 1 个腺苷类化合物 4 和 1 个香豆素类化合物 5。

## 3 抗氧化活性测定

**3.1 样品溶液的制备** DPPH 自由基及水溶性阳性对照 trolox 均溶于无水乙醇。DPPH 自由基储备液浓度为 0.408 mmol·L<sup>-1</sup>, 于 4 °C 冰箱放置备用, 实验测试浓度为 0.204 mmol·L<sup>-1</sup>, 需现用现配。化合物 1 ~ 11 均溶于甲醇且每个样品分别配制 5 ~ 7 个不同浓度的稀释液, 于 4 °C 保存。

**3.2 清除 DPPH 自由基能力的测定<sup>[7]</sup>** 样品溶液分别配置 5 ~ 7 个浓度, 各取 100 μL 0.204 mmol·L<sup>-1</sup> 的 DPPH 无水乙醇溶液, 加盖, 振摇, 避光放置 40 min 后于 517 nm 下测定吸光度 (A)。100 μL 样品溶液和 100 μL 无水乙醇的混合液, 作为样品空白溶液。100 μL 甲醇和 100 μL 0.204 mmol·L<sup>-1</sup> 的 DPPH 无水乙醇溶液的混合液, 作为对照液。100 μL 甲醇和 100 μL 无水乙醇的混合液, 作为空白溶剂。DPPH 清除率 (%) 的计算公式为:

$$\text{DPPH 清除率} = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank1}}) / (A_{\text{control}} - A_{\text{blank2}})] \times 100\%$$

$A_{\text{sample}}$ : 样品溶液与 DPPH 溶液混合液的吸光度;  $A_{\text{blank1}}$ : 样品空白溶液的吸光度;  $A_{\text{control}}$ : 对照液的吸光度;  $A_{\text{blank2}}$ : 空白溶剂的吸光度。

以清除率 (%) 为纵坐标, 样品溶液质量浓度为横坐标, 绘制清除率曲线, 在一定质量浓度范围内, DPPH 清除率 (Y) 与样品的质量浓度 (X) 呈线性关系, 结果见表 1。

## 4 结果

**4.1 结构鉴定** 化合物 1 黄色无定形粉末, ESI-MS  $m/z$ : 757 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, 60 °C, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 12.60 (1H, s, 5-OH), 8.08 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3', 5'), 6.80 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.44 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-9), 5.69 (1H, d,  $J = 7.1$  Hz, H-1''), 5.55 (1H, d,  $J = 1.3$  Hz, H-1'''), 4.62 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1'''), 1.16 (3H, d,  $J = 6.1$  Hz, H-6'''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, 60 °C, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 178.2 (C-4), 162.2 (C-7), 161.5 (C-5), 160.6 (C-4'), 156.8 (C-2), 156.5 (C-9), 133.8 (C-3), 131.5 (C-2', 6'), 121.3 (C-1'), 115.8 (C-3', 5'), 106.3 (C-10), 99.9 (C-6), 95.0 (C-8); 3-*O*-β-*D*-glu-(1 → 2)-β-*D*-glu: 98.8 (C-1''), 82.8 (C-2''), 77.1 (C-3''), 70.3 (C-4''), 77.4 (C-5''), 61.3 (C-6''), 104.5 (C-1'''), 74.9 (C-2'''), 77.1 (C-3'''), 70.4 (C-4'''), 77.9 (C-5'''), 61.6 (C-6'''); 7-

表1 紫花地丁化学成分的 DPPH 自由基清除能力

化合物	线性方程	相关系数 $r$	线性范围	IC <sub>50</sub>
1	$Y = 10.864 2X + 12.844 2$	0.996 2	1.31 ~ 5.25 g·L <sup>-1</sup>	3.42 g·L <sup>-1</sup>
2	$Y = 25.331 4X + 20.282 5$	0.999 8	0.20 ~ 3.15 g·L <sup>-1</sup>	1.49 g·L <sup>-1</sup>
3	$Y = 103.459 6X + 10.654 6$	0.996 7	0.09 ~ 0.76 g·L <sup>-1</sup>	0.38 g·L <sup>-1</sup>
4	$Y = 36.364 3X + 17.236 9$	0.993 8	0.57 ~ 1.71 g·L <sup>-1</sup>	0.90 g·L <sup>-1</sup>
5	$Y = 9.554 5X + 11.392 0$	0.995 0	0.97 ~ 7.80 mg·L <sup>-1</sup>	4.04 mg·L <sup>-1</sup>
11	$Y = 31.500 7X + 10.768 3$	0.996 0	0.21 ~ 1.67 g·L <sup>-1</sup>	1.25 g·L <sup>-1</sup>
6				> 3.83 g·L <sup>-1</sup>
7				> 4.05 g·L <sup>-1</sup>
8				> 1.03 g·L <sup>-1</sup>
9				> 3.72 g·L <sup>-1</sup>
10				> 4.02 g·L <sup>-1</sup>
trolox	$Y = 3.685 0X + 4.910 2$	0.994 1	5.719 ~ 15.25 mg·L <sup>-1</sup>	12.24 mg·L <sup>-1</sup>

*O*- $\alpha$ -*L*-rha: 99.2 (C-1'''), 70.9 (C-2'''), 70.6 (C-3'''), 72.3 (C-4'''), 70.6 (C-5'''), 18.4 (C-6''')。以上数据与文献[8]报道一致,确定化合物 1 为山奈酚-3-*O*- $\beta$ -*D*-槐糖-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷 (kaempferol-3-*O*- $\beta$ -*D*-sopho-rosyl-7-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranoside)。

化合物 2 淡黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 579 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 12.60 (1H, br s, 5-OH), 7.79 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-3', 5'), 6.79 (1H, br s, H-8), 6.46 (1H, br s, H-6), 5.55 (1H, br s, H-1'''), 5.30 (1H, br s, H-1''), 1.13 (3H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-6''), 0.81 (3H, d,  $J = 5.0$  Hz, H-6''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 162.2 (C-7), 160.7 (C-4'), 158.3 (C-2), 135.0 (C-3), 131.2 (C-2', 6'), 120.8 (C-1'), 115.9 (C-3, 5'), 106.3 (C-10), 98.9 (C-6), 95.1 (C-8); 3-*O*- $\alpha$ -*L*-rha: 102.4 (C-1''), 70.6 (C-2''), 70.8 (C-3''), 72.1 (C-4''), 70.7 (C-5''), 17.9 (C-6''); 7-*O*- $\alpha$ -*L*-rha: 99.9 (C-1'''), 70.6 (C-2'''), 71.1 (C-3'''), 71.6 (C-4'''), 70.3 (C-5'''), 18.4 (C-6''')。以上数据与文献[9]报道一致,确定化合物 2 为山奈酚-3,7-二-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷 (kaempferol-3,7-di-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranoside)。

化合物 3 黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 595 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 13.69 (1H, s, 5-OH), 8.01 (2H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-2', 6'), 6.87 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3', 5'), 6.81 (1H, s, H-3), 6-*C*- $\beta$ -*D*-glu: 4.65 (1H, d,  $J = 9.9$  Hz, H-1''); 8-*C*- $\beta$ -*D*-glu: 4.82 (1H, br d,  $J = 9.6$  Hz, H-1''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 182.3 (C-4), 164.1 (C-2),

161.2 (C-7), 160.8 (C-4'), 158.5 (C-5), 155.0 (C-9), 129.0 (C-2', 6'), 121.5 (C-1'), 115.8 (C-3', 5'), 107.5 (C-6), 105.3 (C-8), 103.9 (C-10), 102.6 (C-3); 6-*C*- $\beta$ -*D*-glu: 73.3 (C-1''), 70.9 (C-2''), 77.7 (C-3''), 70.0 (C-4''), 80.8 (C-5''), 59.7 (C-6''); 8-*C*- $\beta$ -*D*-glu: 74.0 (C-1'''), 71.9 (C-2'''), 78.8 (C-3'''), 70.5 (C-4'''), 81.9 (C-5'''), 61.2 (C-6''')。以上数据与文献[6]报道一致,确定化合物 3 为芹菜素-6,8-二-*C*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷 (apigenin-6,8-di-*C*- $\beta$ -*D*-glucopyranoside)。

化合物 4 白色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 268 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 8.34 (1H, s, H-2), 8.21 (1H, s, H-8), 6.00 (1H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-1'), 4.37 (1H, d,  $J = 2.6$  Hz, H-3'), 4.24 (1H, d,  $J = 2.6$  Hz, H-4'), 3.91 (1H, dd,  $J = 12.7, 2.4$  Hz, H-5'b), 3.80 (1H, dd,  $J = 12.9, 2.9$  Hz, H-5'a); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 156.0 (C-6), 152.2 (C-2), 148.5 (C-4), 140.7 (C-8), 119.5 (C-5), 89.4 (C-1'), 86.6 (C-4'), 74.1 (C-2'), 71.2 (C-3'), 62.0 (C-5')。以上数据与文献[10]报道的一致,确定化合物 4 为腺苷 (adenosine)。

化合物 5 淡黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 179 [M + H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.86 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-4), 6.98 (1H, s, H-5), 6.74 (1H, s, H-8), 6.15 (1H, d,  $J = 9.2$  Hz, H-3); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 161.3 (C-2), 150.8 (C-7), 148.9 (C-9), 144.9 (C-4), 143.3 (C-6), 112.8 (C-5), 111.9 (C-3), 111.2 (C-10), 103.1 (C-8)。以上数据与文献[11]报道一致,确定化合物 5 为秦皮

乙素 (esculetin)。

化合物 6 黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 535  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.64 (1H, s, 5-OH), 7.93 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.96 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.76 (1H, s, H-3), 6-C- $\alpha$ -L-ara: 4.72 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-1''); 8-C- $\beta$ -D-xyl: 4.75 (1H, d,  $J = 10.6$  Hz, H-1''');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 182.7 (C-4), 164.4 (C-2), 162.1 (C-7), 161.7 (C-4'), 159.0 (C-5), 155.5 (C-9), 129.0 (C-2', 6'), 122.1 (C-1'), 116.5 (C-3', 5'), 108.8 (C-6), 105.3 (C-8), 104.0 (C-10), 103.3 (C-3); 6-C- $\alpha$ -L-ara: 74.9 (C-1''), 70.0 (C-2''), 74.5 (C-3''), 69.0 (C-4''), 70.7 (C-5''); 8-C- $\beta$ -D-xyl: 75.1 (C-1'''), 71.5 (C-2'''), 79.7 (C-3'''), 70.8 (C-4'''), 71.1 (C-5''')。以上数据与文献[6]报道一致,确定化合物 6 为芹菜素-6-C- $\alpha$ -L-阿拉伯糖-8-C- $\beta$ -D-木糖苷 (apigenin-6-C- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-8-C- $\beta$ -D-xylopyranoside)。

化合物 7 黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 565  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.77 (1H, s, 5-OH), 8.08 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.73 (1H, s, H-3), 6-C- $\beta$ -D-glu: 4.74 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-1''); 8-C- $\alpha$ -L-ara: 4.80 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-1''');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 182.6 (C-4), 164.3 (C-2), 162.9 (C-7), 161.6 (C-4'), 160.0 (C-5), 155.0 (C-9), 129.5 (C-2', 6'), 121.9 (C-1'), 116.5 (C-3', 5'), 109.0 (C-6), 104.9 (C-8), 104.7 (C-10), 102.9 (C-3); 6-C- $\beta$ -D-glu: 75.1 (C-1''), 74.6 (C-2''), 79.2 (C-3''), 70.8 (C-4''), 81.8 (C-5''), 61.5 (C-6''); 8-C- $\alpha$ -L-ara: 75.6 (C-1'''), 69.7 (C-2'''), 71.5 (C-3'''), 69.4 (C-4'''), 71.3 (C-5''')。以上数据与文献[6]报道一致,确定化合物 7 为芹菜素-6-C- $\beta$ -D-葡萄糖-8-C- $\alpha$ -L-阿拉伯糖苷 (apigenin-6-C- $\beta$ -D-glucopyranosyl-8-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside)。

化合物 8 黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 565  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.70 (1H, br s, 5-OH), 7.91 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3', 5'), 6.67 (1H, s, H-3), 6-C- $\beta$ -D-glu: 4.74 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-1''); 8-C- $\beta$ -D-xyl: 4.70 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-1''');  $^{13}C$ -NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 182.6 (C-4), 161.4 (C-7), 160.0 (C-4'), 159.7 (C-5), 129.0 (C-2', 6'), 122.3 (C-1'), 116.3 (C-3', 5'), 109.4 (C-6), 102.7 (C-3);

6-C- $\beta$ -D-glu: 74.7 (C-1''), 71.0 (C-2''), 78.9 (C-3''), 70.0 (C-4''), 81.5 (C-5''), 61.0 (C-6''); 8-C- $\beta$ -D-xyl: 75.6 (C-1'''), 71.9 (C-2'''), 79.5 (C-3'''), 70.1 (C-4'''), 70.7 (C-5''')。以上数据与文献[12]报道一致,确定化合物 8 为芹菜素-6-C- $\beta$ -D-葡萄糖-8-C- $\beta$ -D-木糖苷 (apigenin-6-C- $\beta$ -D-glucopyranosyl-8-C- $\beta$ -D-xylopyranoside)。

化合物 9 黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 535  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.74 (1H, br s, 5-OH), 8.14 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.76 (1H, s, H-3); 6-C- $\alpha$ -L-ara: 4.68 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-1''); 4.04 (1H, m, H-2''); 8-C- $\alpha$ -L-ara: 4.75 (1H, d,  $J = 9.7$  Hz, H-1'''), 4.23 (1H, m, H-2''');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 182.7 (C-4), 164.6 (C-2), 162.4 (C-7), 161.6 (C-4'), 159.4 (C-5), 155.4 (C-9), 129.7 (C-2', 6'), 121.8 (C-1'), 116.5 (C-3', 5'), 109.0 (C-6), 105.2 (C-8), 103.8 (C-10), 102.8 (C-3); 6-C- $\alpha$ -L-ara: 74.8 (C-1''), 69.6 (C-2''), 74.9 (C-3''), 69.3 (C-4''), 70.7 (C-5''); 8-C- $\alpha$ -L-ara: 75.3 (C-1'''), 69.2 (C-2'''), 75.5 (C-3'''), 69.5 (C-4'''), 71.4 (C-5''')。以上数据与文献[6]报道一致,确定化合物 9 为芹菜素-6,8-二-C- $\alpha$ -L-阿拉伯糖苷 (apigenin-6,8-di-C- $\alpha$ -L-arabinopyranoside)。

化合物 10 黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 565  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (400 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 13.57 (1H, br s, 5-OH), 7.99 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3', 5'), 6.77 (1H, s, H-3); 6-C- $\beta$ -D-glu: 4.65 (1H, d,  $J = 9.7$  Hz, H-1''); 8-C- $\beta$ -L-ara: 5.56 (1H, s, H-1''');  $^{13}C$ -NMR (100 MHz, 60 °C, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 182.6 (C-4), 163.7 (C-2), 163.6 (C-7), 161.7 (C-4'), 160.5 (C-5), 153.3 (C-9), 129.0 (C-2', 6'), 121.7 (C-1'), 116.6 (C-3', 5'), 109.6 (C-6), 103.5 (C-8), 102.9 (C-10), 102.8 (C-3); 6-C- $\beta$ -D-glu: 73.6 (C-1''), 71.5 (C-2''), 79.6 (C-3''), 70.4 (C-4''), 81.9 (C-5''), 62.3 (C-6''); 8-C- $\beta$ -L-ara: 72.1 (C-1'''), 63.7 (C-2'''), 72.8 (C-3'''), 70.7 (C-4'''), 67.5 (C-5''')。以上数据与文献[6]报道一致,确定化合物 10 为芹菜素-6-C- $\beta$ -D-葡萄糖-8-C- $\beta$ -L-阿拉伯糖苷 (apigenin-6-C- $\beta$ -D-glucopyranosyl-8-C- $\beta$ -L-arabinopyranoside)。

化合物 11 淡黄色无定形粉末,ESI-MS  $m/z$ : 595  $[M + H]^+$ ;  $^1H$ -NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.60 (1H, br s, 5-OH), 8.09 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-

2',6'), 6.90(2H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-3',5'), 6.83(1H, br s, H-8), 6.45(1H, br s, H-6), 5.56(1H, br s, H-1'''), 5.48(1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 1.15(3H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-6''');  $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 178.1 (C-4), 162.0 (C-7), 161.3 (C-5), 160.8 (C-4'), 157.3 (C-2), 156.5 (C-9), 133.9 (C-3), 131.5 (C-2',6'), 121.1 (C-1'), 115.7 (C-3',5'), 106.1 (C-10), 98.8 (C-6), 94.9 (C-8); 3-*O*- $\beta$ -*D*-glu: 101.2 (C-1''), 74.7 (C-2''), 76.9 (C-3''), 70.7 (C-4''), 78.0 (C-5''), 61.3 (C-6''); 7-*O*- $\alpha$ -*L*-rha: 99.9 (C-1'''), 70.3 (C-2'''), 70.5 (C-3'''), 72.1 (C-4'''), 70.3 (C-5'''), 18.4 (C-6'''). 以上数据与文献[13]报道一致,确定化合物**11**为山奈酚-3-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷(kaempferol-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-7-*O*- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranoside)。

**4.2 DPPH 自由基清除活性** 从表1可以看出,秦皮乙素(**5**)这一香豆素类成分清除 DPPH 自由基的活性最强,且大于水溶性阳性对照 trolox。作为醇提取物正丁醇部位最主要的化合物类型,黄酮碳苷和氧苷的活性较弱,其活性强弱顺序依次为:芹菜素**6**, 8-二-*C*- $\beta$ -*D*-葡萄糖苷(**3**) > 腺苷(**4**) > 山奈酚-3-*O*- $\beta$ -*D*-葡萄糖-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷(**11**) > 山奈酚-3,7-二-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷(**2**) > 山奈酚-3-*O*- $\beta$ -*D*-槐糖-7-*O*- $\alpha$ -*L*-鼠李糖苷(**1**)。对于氧苷来说,3个化合物的抗氧化活性接近,均高于碳苷类成分,化合物**8**由于分离量少,测量终浓度太低,而无法形成50%抑制 DPPH 的浓度,其他黄酮碳苷类化合物**6,7,9,10**的抗氧化活性较弱,实验最高终质量浓度(约  $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )时 DPPH 自由基清除率均未达到30%。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北

京:中国医药科技出版社,2010:317.

- [2] 黄美娥,卓儒洞,唐莉. 紫花地丁乙醇提取物的抗氧化性研究[J]. 食品科技,2007(2):151.
- [3] 徐金钟,曾珊珊,瞿海斌. 紫花地丁化学成分研究[J]. 中草药,2010,41(9):1423.
- [4] 孙艺方,杜利利,周乐,等. 紫花地丁抗菌活性成分研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(19):2666.
- [5] Naohiro O, Yuji N, Tadahiro T. Collagenase inhibitor from *Viola yedoensis*[J]. J Nat Med,2013,67:245.
- [6] Chen X, Nigel C V, Peter J H, et al. Flavone C-glycosides from *Viola yedoensis* Makino[J]. Chem Pharm Bull, 2003,51(10):1204.
- [7] Cheng Z H, Jeffrey M, Yu L L. High-throughput relative DPPH radical scavenging capacity assay[J]. J Agric Food Chem, 2006,54:7429.
- [8] 唐于平,楼凤昌,王景华. 槐果皮中两个山奈酚三糖苷成分[J]. 中国中药杂志,2001,26(12):839.
- [9] 梁英,朱志仁,潘英明,等. 罗汉果叶中山奈酚-3,7-*O*- $\alpha$ -*L*-二鼠李糖苷的提取及自由基清除活性[J]. 食品与发酵工业,2010,36(10):196.
- [10] 冯育林,吴蓓,李云秋,等. 骆驼蹄瓣茎的化学成分研究[J]. 中草药,2009,40(4):536.
- [11] Zhou H Y, Qin M J, Hong J L, et al. Chemical constituents of *Viola yedoensis*[J]. Chin J Nat Med, 2009,7(4):290.
- [12] 朱田密,陈科力,黎莉. 江南卷中的黄酮碳苷类成分研究[J]. 中国药房,2012,23(7):622.
- [13] 夏新中,周思祥,屠鹏飞. 细梗胡枝子化学成分的研究[J]. 中草药,2010,41(9):1432.

[责任编辑 邹晓翠]