

八角莲中两对新的双黄酮对应异构体

王慧杰^{1,2,3}, 韩瑞杰^{1,3}, 孙彦君^{1,3*},
弓建红^{1,3}, 白红云^{1,3}, 王浩杰^{1,3}, 冯卫生^{1,3*}¹河南中医药大学 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 郑州 450046;²周口职业技术学院, 周口 466000; ³河南中医药大学药学院, 郑州 450046

摘要:采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱和制备型高效液相色谱法, 从八角莲乙醇提取物中分离得到 5 个双黄酮类化合物。通过波谱数据分析 (MS、UV、IR、NMR) 与电子圆二色谱 (ECD) 技术, 分别鉴定为 (+)-八角莲双黄酮 H (**1a**)、(-)-八角莲双黄酮 H (**1b**)、(+)-八角莲双黄酮 I (**2a**)、(-)-八角莲双黄酮 I (**2b**)、podoverine F (**3**), 其中, **1a** 与 **1b**, **2a** 与 **2b** 为 2 对新的双黄酮对应异构体。DPPH 自由基清除实验结果显示, 化合物 **2**, **2a**, **2b** 对 DPPH 自由基具有较强的清除能力, IC₅₀ 值分别为 8.87、10.18、11.35 μmol/L, 且强于阳性药 trolox (14.95 μmol/L)。化合物 **2**, **2a**, **2b** 对 DPPH 自由基的清除能力分别强于化合物 **1**, **1a**, **1b**, 进一步的构效关系研究表明, B 环上邻二酚羟基是黄酮类化合物具有 DPPH 自由基清除活性的必需结构基团。

关键词:八角莲; 双黄酮; DPPH 自由基清除; 抗氧化

中图分类号: R284.2; R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)5-0787-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.5.007

Two pairs of new biflavonoid enantiomers from *Dysosma versipellis*WANG Hui-jie^{1,2,3}, HAN Rui-jie^{1,3}, SUN Yan-jun^{1,3*},
GONG Jian-hong^{1,3}, BAI Hong-yun^{1,3}, WANG Hao-jie^{1,3}, FENG Wei-sheng^{1,3*}¹Co-construction Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases by Henan & Education Ministry of P. R. China, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;²Zhoukou Vocational and Technical College, Zhoukou 466000, China;³School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Five biflavonoids were isolated and purified from the ethanol extract of *Dysosma versipellis* by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, and preparative HPLC. Their structures were identified as (+)-dysosmabiflavonoid H (**1a**), (-)-dysosmabiflavonoid H (**1b**), (+)-dysosmabiflavonoid I (**2a**), (-)-dysosmabiflavonoid I (**2b**), podoverine F (**3**) by extensive spectroscopic analysis (MS, UV, IR, NMR) and electronic circular dichroism (ECD) calculations. Compounds **1a** and **1b**, **2a** and **2b** are two pairs of new biflavonoid enantiomers. Compounds **2**, **2a**, and **2b** showed significant DPPH scavenging capacity with IC₅₀ values of 8.87, 10.18, 11.35 μmol/L, respectively, in comparison with trolox (IC₅₀, 14.95 μmol/L). Compounds **2**, **2a**, and **2b** displayed more potent DPPH radical scavenging activity than compounds **1**, **1a**, **1b**, and trolox, respectively. The preliminary structure-activity relationship exhibited that the catechol hydroxyl group in B ring of flavonoids is essential for DPPH radical scavenging activity.

Key words: *Dysosma versipellis*; biflavonoid; DPPH radical scavenging activity; antioxidant

收稿日期: 2023-07-03 接受日期: 2023-11-06

基金项目: 河南中医药大学省属高校基本科研业务专项(2014KYY-WF-QN26); 河南中医药大学科技创新人才项目(2016XCXRC01); 河南省中医药科学研究专项(20-21ZY1039); 河南省高校科技创新团队支持计划(24IRTSTHN039)

* 通信作者 Tel: 86-371-65962746; E-mail: sunyanjunily@126.com, fw-sh@hactcm.edu.cn

八角莲药材来源于小檗科植物八角莲 (*Dysosma versipellis*) 的干燥根茎, 是我国特有的药材, 主要分布于浙江、广西、湖北、湖南、四川、贵州等地^[1]。该药材始载于《神农本草经》, 其性凉, 味苦, 有小毒, 具有清热解毒、化痰散结、祛痛消肿之效。临床上常用于治疗跌打损伤、半身不遂、关节酸痛、毒蛇咬伤、

疮痍肿毒、尖锐湿疣、流行性出血热、乳腺癌、食道癌、乙型脑炎、淋巴结炎、腮腺炎,以及其他的炎症疾病等^[1-4]。八角莲药材主要含有芳基萜类木脂素、黄酮类化合物。截至目前,已分离得到黄酮类化合物 40 个,其中包括双黄酮类化合物 14 个。八角莲中的双黄酮类化合物多为黄酮醇与二氢黄酮醇的聚合物,具有较强的细胞毒、抗氧化、乙酰胆碱酯酶和神经氨酸酶抑制活性^[5-9]。本研究为寻找结构新颖的天然抗氧化剂,阐明八角莲药材的药效物质基础,对八角莲中的双黄酮类化合物进行了研究,并测试其对 DPPH 自由基的清除能力。

1 材料与方法

1.1 材料

八角莲于 2019 年 7 月采集自贵州省清镇市,经河南中医药大学董诚明教授鉴定为小檗科八角莲属植物八角莲(*Dysosma versipellis*)的干燥根茎,样本(DV 20190706)保存于呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心。

1.2 仪器与试剂

Rudolph AP-IV 旋光仪(美国 Rudolph 公司); Chirascan 圆二色谱仪(英国 Applied Photophysics 公司); Thermo EVO 300 紫外光谱仪(赛默飞世尔科技有限公司); Thermo Nicolet IS 10 红外光谱仪(赛默飞世尔科技有限公司); Bruker AVANCE III 500 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司); Bruker maxis HD 型飞行时间质谱(德国 Bruker 公司); LC-52 型制备型高效液相色谱仪(北京赛谱锐思科技有限公司); Multiskan MK3 酶标仪(美国 Thermo Fisher); 薄层色谱硅胶 GF254、柱色谱硅胶(200~300 目,青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20(Pharmacia Biotech 公司); 甲醇(色谱纯,天津市四友精细化学品有限公司); 其他试剂均为分析级; 水溶性维生素 E (Trolox)(货号:238813,纯度为 98%,Sigma 公司)。

1.3 化合物的提取与分离方法

取干燥的八角莲药材 40 kg,加入 95% 的乙醇加热回流提取 3 次,每次提取时间为 1 h,减压回收 95% 乙醇,得浸膏状 95% 乙醇提取物。药渣加入 50% 的乙醇加热回流提取 1 次,提取时间为 1 h,减压回收 50% 乙醇,得浸膏状 50% 乙醇提取物。合并 95% 乙醇提取物和 50% 乙醇提取物,共计 5.4 kg,加入无水乙醇溶解,再加入硅藻土吸附,回收溶剂后,将载有提取物的硅藻土装入玻璃柱,依次加入二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇洗脱,回收溶剂,得二氯甲烷

洗脱部位(1.2 kg)、乙酸乙酯洗脱部位(0.8 kg)、甲醇洗脱部位(3.4 kg)。甲醇洗脱部位经硅胶柱色谱分离,采用二氯甲烷-甲醇混合溶剂系统(100:0、100:1、100:3、100:5、100:7、100:10、100:30、100:50、0:100,V/V)进行梯度洗脱,各个流份经硅胶薄层色谱检测分析,合并得到组分 Fr. 1~Fr. 9。组分 Fr. 5(110.0 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,甲醇洗脱,得到亚组分 Fr. 5-1~Fr. 5-8。亚组分 Fr. 5-8(42.5 g)经硅胶柱色谱分离,石油醚-丙酮混合溶剂系统(体积比为 100:10、100:20、100:30、100:40、100:50、100:70、1:1、1:2、1:3)梯度洗脱,得到亚组分 Fr. 5-8-1~Fr. 5-8-9。组分 Fr. 5-8-4(0.5 g)经制备型高效液相色谱分离(60% 甲醇-水,3 mL/min),得到化合物 **3**($t_R = 67.2$ min,3.0 mg)。亚组分 Fr. 5-8-5(1.07 g)经制备型高效液相色谱分离(55% 甲醇-水,3 mL/min),收集保留时间为 72.2 min 的色谱峰,再经制备型高效液相色谱纯化(43% 乙腈-水,3 mL/min),得到化合物 **1**($t_R = 31.5$ min,8.5 mg)。化合物 **1**经手性色谱柱 Daicel chiral PAK AD-H(250 mm × 10 mm,5 μm)进行拆分(环己烷-异丙醇 = 60:40,2 mL/min),得到化合物 **1a**($t_R = 10.1$ min,3.0 mg)和 **1b**($t_R = 50.0$ min,3.0 mg)。组分 Fr. 6(130.0 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,甲醇洗脱,得到亚组分 Fr. 6-1 和 Fr. 6-2。亚组分 Fr. 6-2(60.5 g)经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇混合溶剂系统梯度洗脱(100:1、100:3、100:5、100:7、100:10、100:30,V/V),得到亚组分 Fr. 6-2-1~Fr. 6-2-6。亚组分 Fr. 6-2-4(1.69 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱分离,甲醇洗脱,得到亚组分 Fr. 6-2-4-1~Fr. 6-2-4-6。亚组分 Fr. 6-2-4-4(0.59 g)经制备型高效液相色谱纯化(60% 甲醇-水,3 mL/min),得到化合物 **2**($t_R = 20.2$ min,3.5 mg)。化合物 **2**经手性色谱柱 Daicel chiral PAK AD-H(250 mm × 10 mm,5 μm)进行拆分(环己烷-异丙醇 = 70:30,2 mL/min),得到化合物 **2a**($t_R = 10.5$ min,1.2 mg)和 **2b**($t_R = 36.0$ min,1.2 mg)。

1.4 ECD 计算方法

采用 Spartan 软件通过 MMFF94S 力场对化合物 **1a**、**1b**、**2a**、**2b** 进行了构象搜索,分别得到了 4 种优势构象。利用密度泛函理论(DFT)经 B3LYP/6-31G* 对所选优势构象进行进一步优化。在 MeOH 溶剂中,采用 CPCM 模型,利用含时密度泛函理论(TD-DFT)经 B3LYP/6-31+G* 对这些优势构象进行了

ECD 计算^[10]。

1.5 DPPH 自由基清除活性

采用 DPPH 自由基清除实验^[11],评价了所有被分离化合物的抗氧化活性。将不同浓度样品与 DPPH(终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$)混合反应,设定 3 个重复孔,同时设置不含药物的空白对照和 Trolox 阳性对照,30 $^{\circ}\text{C}$,1 h,酶标仪测定 OD 值,检测波长为 515 nm。待测化合物对 DPPH 自由基清除活性的 IC_{50} 值采用 Reed-Muench 方法计算。

2 实验结果

2.1 化合物结构鉴定

化合物 **1** 黄色无定形粉末;UV (MeOH) λ_{max}

(log ϵ) 202 (5.18), 230 (4.99), 264 (4.76), 300 (4.79), 359 (4.83) nm; IR (iTR) λ_{max} 3 383, 2 948, 2 838, 1 638, 1 552, 1 516, 1 471, 1 374, 1 262, 1 176, 1 031 cm^{-1} 。根据 HR-ESI-MS: m/z 593.068 5 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺ (calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{12}\text{Na}$, 593.069 0) 确定化合物 **1** 的分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$, 不饱和度为 22。化合物 **1** (见图 1) 的 ^1H NMR 谱(500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (见表 1) 给出四组芳环偶合系统,包括两个对位二取代苯基 δ_{H} 7.27 (2H, d, $J = 8.7$ Hz)、6.78 (2H, d, $J = 8.7$ Hz)、8.08 (2H, d, $J = 8.9$ Hz)、6.94 (2H, d, $J = 8.9$ Hz), 一个五取代苯基 δ_{H} 7.01 (1H, s), 以及一个 1, 2, 3, 5-四取代苯基 δ_{H} 5.82 (1H, s)、5.88 (1H, s)。 ^{13}C

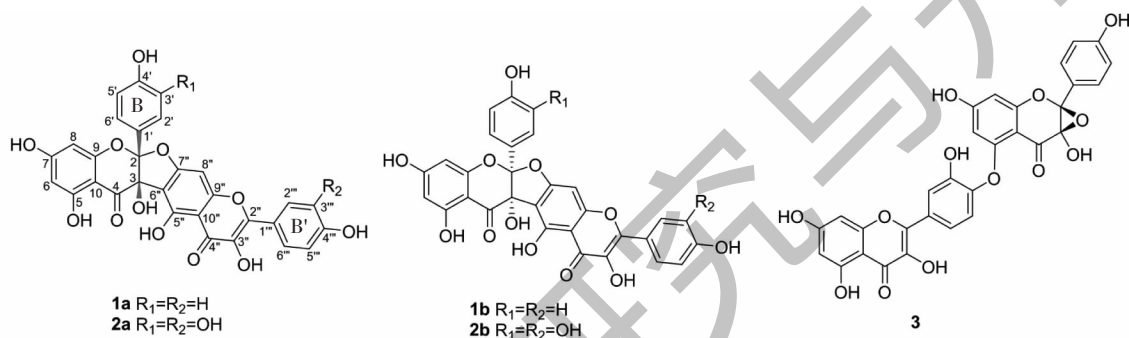


图 1 化合物 **1**~**3** 的结构

Fig. 1 The structures of compounds **1-3**

NMR 谱(125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) (见表 2) 与 HSQC 谱给出两个羰基 δ_{C} 176.6 (为黄酮醇特征性羰基)、190.1 (为二氢黄酮醇特征性羰基), 四个苯环, 两个连氧烯碳 δ_{C} 147.9、136.1, 一个二连氧脂肪季碳信号 δ_{C} 117.6 (C-2), 一个单连氧脂肪季碳信号 δ_{C} 79.1 (C-3)。由对位取代苯基上的质子 δ_{H} 8.08 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-2''', 6''') 与连氧烯碳 C-2'' (δ_{C} 147.9) 的 HMBC 的远程相关 (见图 2), 以及一个五取代苯基氢信号 δ_{H} 7.01 (1H, s), 提示化合物 **1** 含有山柰酚结构单元。由对位取代苯基的氢信号 δ_{H} 7.27 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', H-6') 与连氧脂肪季碳 C-2 (δ_{C} 117.6) 的 HMBC 远程相关, 一个 1, 2, 3, 5-四取代苯基 δ_{H} 5.88 (1H, s)、5.82 (1H, s), 提示另一个结构单元为二氢山柰酚结构片段。将化合物 **1** 的 ^{13}C NMR 数据与山柰酚的对比分析表明, 山柰酚的 C-5、C-6、C-7、C-8 与化合物 **1** 相应位置的 ^{13}C NMR 数据差异明显 [化合物 **1**: δ_{C} 156.8 (C-5''), 110.1 (C-6''), 164.3 (C-7''), 91.1 (C-8''); 山柰酚: δ_{C} 160.7 (C-5), 98.2 (C-6), 163.9 (C-7), 93.5 (C-8)^[12], 提示山柰酚结构单元在 C-6'' 和 C-7'' 位被

取代。由一个二连氧脂肪季碳信号 δ_{C} 117.6 (C-2) 与一个单连氧脂肪季碳信号 δ_{C} 79.1 (C-3), 提示山柰酚结构单元和二氢山柰酚结构单元通过一个醚桥 C-2-O-C-7'' 和一个 C-3-C-6'' 键相连 (见图 1)。尽管反复地重结晶实验, 一直无法获得用于 X-单晶衍射的晶体。NOESY 实验无法提供两个结构单元相连的任何信息。化合物 **1** 的 ECD 光谱未显示任何 Cotton 效应 (200 ~ 400 nm), 且比旋光度值为零, 说明其为外消旋体混合物。采用手性 Daicel PAK AD-H 色谱柱分离, 得到等量的化合物 **1a** 和 **1b**。通过 ECD 光谱数据分析, 确定了 C-2 与 C-3 位的绝对构型。化合物 **1a** 与 **1b** 给出相反的 Cotton 效应, 且测试的 ECD 光谱数据分别与异构体 (2*S*, 3*S*)-**1**、(2*R*, 3*R*)-**1** 的计算 ECD 光谱数据基本一致 (见图 3), 由此确定化合物 **1a** 与 **1b** 的 C-2、C-3 位的绝对构型分别为 2*S*, 3*S* 与 2*R*, 3*R*。根据 HSQC 和 HMBC 谱 (见图 2), 对化合物 **1** 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据进行归属, 具体见表 1 和 2。因此, 化合物 **1a** 与 **1b** 的结构被鉴定为 (2*S*, 3*S*)-3, 5, 7, 4'-tetrahydroxyflavanone-(2-O-7'':3-6'')-3'', 5'', 4'''-trihydroxyflavone、(2*R*,

3*R*)-3,5,7,4'-tetrahydroxyflavanone-(2-*O*-7'';3-6'')- 莲双黄酮 H、(-)-八角莲双黄酮 H。
3'',5'',4'''-trihydroxyflavone, 分别命名为(+) -八角

表 1 化合物 1 和 2 的 ^1H NMR 数据 (500 MHz, DMSO- d_6)

Table 1 ^1H NMR Data of compounds 1 and 2 (500 MHz, DMSO- d_6)

No.	1	2	No.	1	2
6	5.88(1H,s)	5.86(1H,s)	8''	7.01(1H,s)	6.97(1H,s)
8	5.82(1H,s)	5.78(1H,s)	2'''	8.08(1H,d, $J=8.9$ Hz)	7.72(1H,d, $J=2.1$ Hz)
2'	7.27(1H,d, $J=8.7$ Hz)	6.88(1H,d, $J=2.0$ Hz)	3'''	6.94(1H,d, $J=8.9$ Hz)	
3'	6.78(1H,d, $J=8.7$ Hz)		5'''	6.94(1H,d, $J=8.9$ Hz)	6.91(1H,d, $J=8.5$ Hz)
5'	6.78(1H,d, $J=8.7$ Hz)	6.72(1H,d, $J=8.4$ Hz)	6'''	8.08(1H,d, $J=8.9$ Hz)	7.57(1H,dd, $J=8.5,2.1$ Hz)
6'	7.27(1H,d, $J=8.7$ Hz)	6.75(1H,dd, $J=8.4,2.0$ Hz)			

表 2 化合物 1 和 2 的 ^{13}C NMR 数据 (125 MHz, DMSO- d_6)

Table 2 ^{13}C NMR Data of compounds 1 and 2 (125 MHz, DMSO- d_6)

No.	1	2	No.	1	2
2	117.6,s	117.6,s	2''	147.9,s	147.8,s
3	79.1,s	79.1,s	3''	136.1,s	136.1,s
4	190.1,s	190.1,s	4''	176.6,s	176.5,s
5	163.4,s	163.3,s	5''	156.8,s	156.7,s
6	97.0,d	97.0,d	6''	110.1,s	110.2,s
7	168.5,s	170.2,s	7''	164.3,s	164.3,s
8	95.2,d	95.3,d	8''	91.1,d	91.0,d
9	160.3,s	160.4,s	9''	157.2,s	157.1,s
10	98.1,s	97.9,s	10''	105.7,s	105.6,s
1'	123.4,s	123.8,s	1'''	121.3,s	121.6,s
2'	128.4,d	114.5,d	2'''	129.7,d	115.3,d
3'	114.8,d	144.6,s	3'''	115.5,d	145.2,s
4'	158.7,s	146.8,s	4'''	159.6,s	148.1,s
5'	114.8,d	114.9,d	5'''	115.5,d	115.6,d
6'	128.4,d	118.1,d	6'''	129.7,d	120.1,d

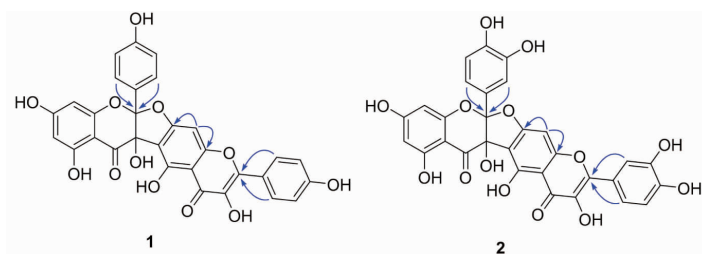


图 2 化合物 1 和 2 主要的 HMBC 相关

Fig. 2 Key HMBC correlations of compounds 1 and 2

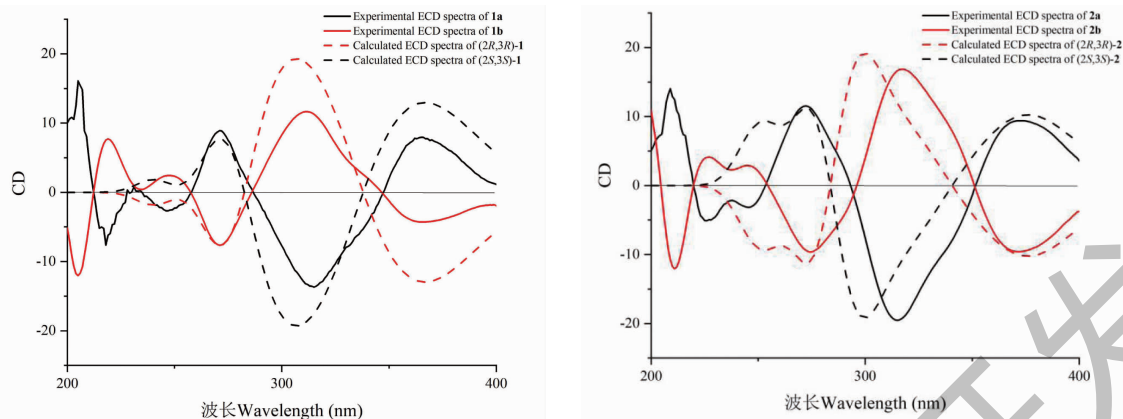


图3 化合物 1a、2a、1b、2b 的实测和计算 ECD 谱图

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compounds 1a, 1b, 2a, and 2b

化合物 1a 黄色无定形粉末; $[\alpha]_D^{20} + 39.16$ (c 0.02, MeOH); ECD (MeOH) λ_{\max} ($\Delta \epsilon$) 205 (+5.6), 218 (-2.6), 247 (-0.9), 271 (+3.1), 315 (-4.7), 366 (+2.7) nm。

化合物 1b 黄色无定形粉末; $[\alpha]_D^{20} - 37.04$ (c 0.02, MeOH); ECD (MeOH) λ_{\max} ($\Delta \epsilon$) 205 (-4.2), 219 (+2.7), 247 (+0.8), 271 (-2.6), 312 (+4.0), 366 (-1.5) nm。

化合物 2 黄色不定形粉末; UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$) 203 (3.74), 255 (3.26), 292 (3.20), 367 (3.23) nm; IR (iTR) λ_{\max} 3 383, 2 924, 2 854, 1 636, 1 471, 1 359, 1 267, 1 169, 1 124 cm^{-1} 。

根据 HR-ESI-MS: m/z 625.058 8 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{30}H_{18}O_{14}Na$, 625.059 4) 确定化合物 2 的分子式为 $C_{30}H_{18}O_{14}$, 不饱和度为 22。化合物 2 (见图 1) 与 1 相比, 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据基本相似, 不同之处在于化合物 2 中的槲皮素和二氢槲皮素结构单元代替了化合物 1 中相应的山柰酚和二氢山柰酚结构单元。这也由两组 1,3,4-三取代苯基氢信号 δ_H 7.72 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'''), 7.57 (1H, dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, H-6'''), 6.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2')、6.75 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6') 分别与连氧烯碳 C-2'' (δ_C 147.8)、二连氧脂肪季碳信号 C-2 (δ_C 117.6) 的 HMBC 远程相关所证实。化合物 2 的 ECD 光谱没有明显的 Cotton 效应, 比旋光度值为零, 说明其为外消旋体。化合物 2 经 Daicel PAK AD-H 色谱柱手性分离, 得到等量的化合物 2a 与 2b。化合物 2a 与 2b 的测试 ECD 光谱数据分别与

异构体 (2S,3S)-2、(2R,3R)-2 的计算 ECD 光谱数据一致 (见图 3), 由此确定化合物 2a 与 2b 的 C-2、C-3 位的绝对构型分别为 2S,3S 与 2R,3R。根据 HSQC、HMBC 谱 (见图 2), 对化合物 2 的 1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据进行归属, 具体见表 1 和 2。因此, 化合物 2a 与 2b 的结构确定为 (2S,3S)-3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavanone-(2-O-7'': 3-6''')-3'', 5'', 3''', 4'''-tetrahydroxyflavone、(2R,3R)-3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavanone-(2-O-7'': 3-6''')-3'', 5'', 3''', 4'''-tetrahydroxyflavone, 分别命名为 (+)-八角莲双黄酮 I、(-)-八角莲双黄酮 I。

化合物 2a 黄色无定形粉末; $[\alpha]_D^{20} + 40.13$ (c 0.01, MeOH); ECD (MeOH) λ_{\max} ($\Delta \epsilon$) 209 (+5.1), 226 (-1.9), 237 (-0.8), 245 (-1.1), 272 (+4.2), 315 (-7.1), 373 (+3.4) nm。

化合物 2b 黄色无定形粉末; $[\alpha]_D^{20} - 41.99$ (c 0.01, MeOH); ECD (MeOH) λ_{\max} ($\Delta \epsilon$) 211 (-4.4), 227 (+1.5), 238 (+0.8), 245 (+1.1), 275 (-3.5), 317 (+6.2), 371 (-3.5) nm。

化合物 3 黄色无定型粉末; $[\alpha]_D^{20} + 26.49$ (c 0.12, MeOH)。UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$) 202 (4.36), 250 (3.85), 264 (3.81), 303 (3.83), 358 (3.81) nm; IR (iTR) λ_{\max} 3 224, 2 359, 2 337, 1 642, 1 504, 1 374, 1 320, 1 282, 1 248, 1 170, 1 090, 1 050, 1 030 cm^{-1} ; HR-ESI-MS: m/z 587.081 6 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{30}H_{19}O_{13}$, 587.082 6), 609.063 3 $[M + Na]^+$ (calcd for $C_{30}H_{18}O_{13}Na$, 609.064 5)。 1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.86 (1H, dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, H-6'''), 7.82

(1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'''), 7.49 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.26 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5'''), 6.75 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.46 (1H, s, H-8''), 6.18 (1H, s, H-6''), 5.98 (1H, s, H-6), 5.96 (1H, s, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 100.3 (C-2), 90.4 (C-3), 187.1 (C-4), 163.0 (C-5), 97.2 (C-6), 168.0 (C-7), 96.2 (C-8), 159.0 (C-9), 99.6 (C-10), 124.0 (C-1'), 129.3 (C-2'), 114.8 (C-3'), 158.7 (C-4'), 114.8 (C-5'), 129.3 (C-6'), 145.0 (C-2''), 136.7 (C-3''), 176.1 (C-4''), 160.7 (C-5''), 98.3 (C-6''), 164.1 (C-7''), 93.6 (C-8''), 156.2 (C-9''), 103.1 (C-10''), 125.7 (C-1'''), 116.6 (C-2'''), 140.4 (C-3'''), 141.6 (C-4'''), 117.1 (C-5'''), 122.3 (C-6'''). 以上数据与文献^[7]报道基本

一致,故鉴定化合物**3**为 podoverine F。

2.2 DPPH 自由基清除活性

化合物**1**、**1b**、**2**、**2a**、**2b**、**3**对 DPPH 自由基均具有较强的清除能力(见表3),其中化合物**2**、**2a**、**2b**对 DPPH 自由基的清除能力强于阳性药 trolox (14.95 $\mu\text{mol/L}$), IC_{50} 值分别为 8.87、10.18、11.35 $\mu\text{mol/L}$ 。化合物**1**与**2**具有相同的结构骨架,差异之处在于 B 环上羟基数目不同(化合物**1**中均为 4-羟基-苯基,而化合物**2**中均为 3,4-二羟基苯基),由化合物**2**、**2a**、**2b**对 DPPH 自由基的清除能力分别强于**1**、**1a**、**1b**,表明 B 环上邻二酚羟基是黄酮类化合物具有 DPPH 自由基清除活性的必需结构基团。化合物**1**与**2**对 DPPH 自由基的清除能力分别强于它们的拆分体**1a**、**1b**与**2a**、**2b**,其原因可能为中药活性成分之间的协同作用。

表3 化合物**1**、**1a**、**1b**、**2**、**2a**、**2b**对 DPPH 自由基清除活性

Table 3 DPPH free radical scavenging activity of compounds **1**, **1a**, **1b**, **2**, **2a** and **2b**

No.	IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$)	No.	IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$)
1	28.27 \pm 0.66	2a	10.18 \pm 0.75
1a	>50	2b	11.35 \pm 0.83
1b	35.02 \pm 2.07	3	29.16 \pm 2.08
2	8.87 \pm 0.31	Trolox	14.95 \pm 0.09

3 结论

本实验对八角莲 95% 乙醇和 50% 乙醇提取物中的双黄酮类化合物进行研究,共分离鉴定了 2 对新的双黄酮对应异构体和 1 个双黄酮类化合物,分别鉴定为(+)-八角莲双黄酮 H(**1a**)、(-)-八角莲双黄酮 H(**1b**)、(+)-八角莲双黄酮 I(**2a**)、(-)-八角莲双黄酮 I(**2b**)、podoverine F(**3**)。采用 DPPH 自由基清除实验,测试化合物**1**、**1a**、**1b**、**2**、**2a**、**2b**的抗氧化活性,结果显示,化合物**2**、**2a**、**2b**对 DPPH 自由基具有较强的清除能力,且强于阳性药 trolox。构效关系研究表明,B 环上邻二酚羟基是黄酮类化合物具有 DPPH 自由基清除活性的必需结构基团。本实验从八角莲中发现了结构新颖的双黄酮类化合物,且对 DPPH 自由基具有较强清除作用,为八角莲药材资源合理开发利用提供参考依据。

参考文献

1 Guan BC, Fu CX, Qiu YX, et al. Genetic structure and breeding system of a rare understory herb, *Dysosma versipellis* (Berberidaceae), from temperate deciduous forests in China[J].

Am J Bot, 2010, 97: 111-122.

2 Liu CX, Zhang CN, He T, et al. Study on potential toxic material base and mechanisms of hepatotoxicity induced by *Dysosma versipellis* based on toxicological evidence chain (TEC) concept[J]. Ecotox Environ Safe, 2020, 190: 110073.

3 Xu XQ, Gao XH, Jin LH, et al. Antiproliferation and cell apoptosis inducing bioactivities of constituents from *Dysosma versipellis* in PC3 and Bcap-37 cell lines[J]. Cell Div, 2011, 6: 14.

4 Shi YC, Yuan HP, Zou R, et al. Complete chloroplast genome sequence of *Dysosma versipellis* (Berberidaceae), a rare and threatened species endemic to China[J]. Mitochondrial DNA B, 2019, 4: 4218-4219.

5 Jiang F, Tian HY, Zhang JL, et al. Chemical constituents from *Dysosma versipellis*[J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2011, 42: 634-639.

6 Chen RD, Duan RG, Wei YN, et al. Flavonol dimers from callus cultures of *Dysosma versipellis* and their *in vitro* neuraminidase inhibitory activities[J]. Fitoterapia, 2015, 107: 77-84.