

文章编号: 1004-4353(2017)02-0128-03

北豆根化学成分及其活性研究

衣涛¹, 金英今², 贾静杰², 李熙峰^{2*}

(1. 吉林烟草工业有限责任公司, 吉林 延吉 133000; 2. 延边大学理学院 化学系, 吉林 延吉 133002)

摘要: 利用超声辅助溶剂提取法, 正、反相柱色谱及半制备 HPLC 等分离纯化手段, 从植物北豆根中分离得到 2 个化合物, 并利用核磁共振、质谱、红外光谱等对其进行结构鉴定, 结果显示这 2 个化合物分别为蝙蝠葛啡碱(menisporphine)和蝙蝠葛宁碱(dauriporphine)。活性实验结果表明, 这 2 个化合物均具有较好的自由基清除活性, 抑制率分别为 99.8% 和 92.4%。本文实验结果可为抗氧化和抗老化药物的开发研究提供实验依据。

关键词: 北豆根; 自由基清除活性; 蝙蝠葛啡碱; 蝙蝠葛宁碱

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

Study on chemical constituents from rhizome of *menispermum dauricum*

YI Tao¹, JIN Yingjin², JIA Jingjie², LI Xifeng^{2*}

(1. Jilin Tobacco Industry Co., Ltd., Yanji 133000, China; 2. Department of Chemistry,
College of Science, Yanbian University, Yanji 133002, China)

Abstract: Two compounds were separated and purified from *menispermum dauricum* using ultrasonic-assisted solvent extraction technology, normal or reverse phase column chromatography and semi-preparative HPLC etc. Their structures were established by NMR, MS and IR spectroscopy experiments. The two compounds were determined as menisporphine (1) and dauriporphine (2). Compounds 1 and 2 showed remarkable scavenging activity toward DPPH. Inhibition rate are 99.8% and 92.4%, respectively. The results of this paper provide experimental basis for the development of anti-oxidation and anti-aging drugs.

Keywords: *menispermum dauricum*; free radical scavenging activity; menisporphine; dauriporphine

中药北豆根(蝙蝠葛根)为防己科植物蝙蝠葛(*menispermum dauricum*)的干燥根茎, 是长白山区有毒植物之一, 多生于海拔 200~1 500 m 的山地灌丛中或攀于岩石上。北豆根具有清热解毒、祛风止痛的功效, 用于咽喉肿痛、肠炎痢疾、风湿痹痛等症^[1-2]。研究表明, 中药北豆根含有多种生物碱, 如蝙蝠葛苏林碱(daurisoline)、蝙蝠葛碱(dauricine)、N-去甲基蝙蝠葛碱等, 这些生物碱的分子内均含有异喹啉结构单元^[3-4], 不仅具有抑菌消炎作用, 还具有改善心脑血管功能、免疫调节

及抗肿瘤等作用^[5-7]。另外, 蝙蝠葛碱和蝙蝠葛苏林碱还具有较好的抗心律失常作用, 并已用于临床治疗^[8-9]。本课题组的前期研究表明, 北豆根粗提物对玉米大斑病菌及玉米弯孢叶斑病菌具有较强的抑制率, 在浓度 25 $\mu\text{g/mL}$ 时, 其抑制率分别达到了 78.0% 和 80.0%^[10]。目前虽然对北豆根的药理作用及化学成分进行了较多研究, 但有关北豆根在 DPPH 自由基清除活性方面的研究尚未见报导。鉴于此, 本项研究对北豆根甲醇粗提物进行粗分离和筛选, 对得到的化合物进行了结构鉴

定,并对该化合物的 DPPH 自由基消除活性进行了研究.

1 仪器与材料

1200RRLC-6410B 型高效液相色谱-质谱联用仪(Agilent); AV-300 型核磁共振仪(Bruker); LC-6AD 型高效液相色谱仪(HPLC, Shimadzu); 手提式紫外检测器(254 nm, 上海顾村电光仪器厂); 酶标仪(CD); P restige-21 型红外光谱仪(IR, Shimadzu); U-3010 型紫外光谱仪(UV, Shimadzu); 维生素 C(V_C , Sigma-Aldrich); 1,1-二苯基苦酰基苯肼(DPPH, Sigma-Aldrich); Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 (AMRESCO); 柱色谱用硅胶(100~200 目, 青岛海洋化工厂); 反相色谱硅胶(ODS-A, YMC * GEL); 色谱柱(ODS-AM, 250×10 mm, 5 μ m, YMC-Pack); 薄层色谱板(TLC, Silica gel 60 F₂₅₄, MERCK); 96 孔板(海口市生物技术研究); 色谱级甲醇(Fisher), 甲醇、氯仿、石油醚、醋酸乙酯、二氯甲烷均为分析纯; 北豆根(采样于延吉市市郊).

2 化合物的提取分离

将中药北豆根干燥块茎 500.0 g, 用甲醇溶剂在室温条件下浸泡过夜并提取 3 次, 过滤之前, 每次超声处理 15 min. 提取液经过滤合并后减压浓缩, 得棕黑色浸膏 45.0 g. 将上述浸膏 45.0 g 全部溶解于蒸馏水中, 依次用乙酸乙酯、正丁醇进行萃取. 经浓缩分别得乙酸乙酯和正丁醇的萃取物棕黑色浸膏 8.0 g 和 9.8 g. 将乙酸乙酯萃取物 8.0 g 溶解于少量的乙酸乙酯溶剂并与硅胶拌样, 干法上样装柱, 再以石油醚-丙酮(petroleum-acetone, Pet-Ace; 100%~0%)进行硅胶柱层析, 用 TLC 进行跟踪检测, 合并相同馏份, 得到 4 个不同极性的馏分. 馏份 3 经反复的硅胶柱层析 Pet-Ace(100%~0%)、ODS 反相柱层析(甲醇-水; 100%~0%)以及半制备 HPLC(C_{18} , MeOH : H_2O = 75 : 25)分离得到化合物 1 (7.7 mg). 将馏份 4 反复进行硅胶柱层析 Pet-Ace(100%~0%)、ODS 反相柱层析(甲醇-水; 100%~0%)以及半制备 HPLC(C_{18} , MeOH : H_2O = 80 : 20)分离得到化

合物 2 (3.7 mg).

3 化合物的结构鉴定

3.1 化合物 1 的结构鉴定

得浅黄色固体粉末; UV($CHCl_3$) λ_{max} (log ϵ) 254(4.55), 289(3.98) nm; IR(KBr) ν_{max} 1 657, 1 603, 1 413, 1 280, 1 242, 1 014 cm^{-1} ; 1H NMR($CDCl_3$, 300 MHz) δ 8.75(1H, d, J = 8.8 Hz, H-11), 8.60(1H, d, J = 5.4 Hz, H-2), 7.83(1H, d, J = 2.7 Hz, H-8), 7.50(1H, d, J = 5.4 Hz, H-3), 7.34(1H, s, H-4), 7.30(1H, dd, J = 8.8, 2.7 Hz, H-10), 4.13(3H, s, OCH_3 -5), 4.05(3H, s, OCH_3 -6), 3.97(3H, s, OCH_3 -9); ^{13}C NMR($CDCl_3$, 75 MHz) δ 182.5(s, C-7), 161.2(s, C-9), 156.3(s, C-6), 155.4(s, C-5), 147.2(s, C-11b), 143.6(d, C-3), 134.7(s, C-7a), 133.2(s, C-3a), 129.6(s, C-11a), 126.8(d, C-11), 121.8(d, C-10), 120.4(s, C-3b), 118.9(d, C-2), 118.3(s, C-6a), 111.4(d, C-4), 108.9(d, C-8), 61.5(q, C-5- OCH_3), 56.2(q, C-6- OCH_3), 55.6(q, C-9- OCH_3); HMBC: H-2/C-3, 3a, 11b; H-3/C-2, 3b; H-4/C-3, 5; H-8/C-7, 7a, 9; H-10/C-8, 11a; H_3 - OCH_3 -5/C-5; H_3 - OCH_3 -6/C-6; H_3 - OCH_3 -9/C-9; ESIMS m/z 322 $[M+H]^+$. 以上数据与文献[11]报道基本一致, 故鉴定化合物 1 为蝙蝠葛啡碱(menisporphine), 其结构如图 1 所示.

3.2 化合物 2 的结构鉴定

得浅黄色固体粉末; UV($CHCl_3$) λ_{max} (log ϵ) 227(3.98), 263(4.44) nm; IR(KBr) ν_{max} 1 645, 1 603, 1 398, 1 281 cm^{-1} ; 1H NMR($CDCl_3$, 300 MHz) δ 8.81(1H, d, J = 8.8 Hz, H-11), 8.68(1H, d, J = 5.6 Hz, H-2), 7.95(1H, d, J = 5.6 Hz, H-3), 7.87(1H, d, J = 2.7 Hz, H-8), 7.32(1H, dd, J = 8.8, 2.7 Hz, H-10), 4.27(3H, s, OCH_3 -4), 4.17(3H, s, OCH_3 -6), 4.05(3H, s, OCH_3 -5), 3.99(3H, s, OCH_3 -9); ^{13}C NMR($CDCl_3$, 75 MHz) δ 181.5(s, C-7), 161.4(s, C-9), 160.9(s, C-6), 153.1(s, C-4), 147.3(s, C-11b), 146.3(d, C-5), 143.0(d, C-2), 135.0(s, C-7a), 129.5(s, C-11a), 128.4(d, C-3a), 126.9(d, C-11), 121.6(d, C-10), 120.0(s, C-3b),

116.5(s,C-6a), 114.5(d,C-3), 108.8(d,C-8), 61.8(q,C-OCH₃-4), 61.8(q,C-OCH₃-5), 61.8(q,C-OCH₃-6), 55.7(q,C-OCH₃-9); HMBC: H-2/C-3, 3a,11b; H-3/C-3a,3b,11b; H-8/C-7,10,11a; H-10/C-8,11a; H-11/C-7,9; COSY: H-2/H-3; H-10/H-11; ESIMS m/z 352 [M+H]⁺. 以上数据与文献[12]报道基本一致,故鉴定化合物 2 为蝙蝠葛宁碱(auriporphine),其结构如图 1 所示.

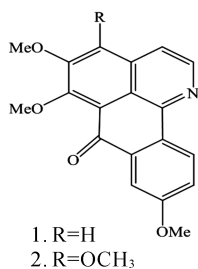


图 1 化合物蝙蝠葛啡碱和蝙蝠葛宁碱的结构

4 自由基清除活性实验

对化合物 1 和化合物 2 分别进行了自由基清除活性测试. 结果表明,它们的 DPPH 自由基清除率均在 90% 以上,而 IC₅₀ 值分别为 7.5 μg/mL 和 9.3 μg/mL,接近于阳性参照维生素 C (IC₅₀ 值为 4.8 μg/mL).

5 结论

本文在中药北豆根的甲醇提取物中分离纯化得到 2 个化合物,并通过波谱数据鉴定其结构,它们分别为蝙蝠葛啡碱(1)和蝙蝠葛宁碱(2). 化合物 1 和化合物 2 的 DPPH 自由基清除活性较强,清除率均在 90% 以上,而 IC₅₀ 值分别为 7.5 μg/mL 和 9.3 μg/mL,接近于阳性参照维生素 C (IC₅₀ 值为 4.8 μg/mL). 本研究结果可为蝙蝠葛生物碱抗

氧化药物的开发提供实验依据.

参考文献:

- [1] 杨云,冯卫生. 中药化学成分提取分离手册[M]. 中国中医药出版社,1998:122.
- [2] 李铭,单保恩. 北豆根的研究现状[J]. 国外医学中医中药分册,2005,27(5):267-271.
- [3] Sugimoto Y, Babiber H A A, Inanaga S, et al. Ox-isoaporphines from *menispermum dauricum* [J]. Phytochemistry, 1999,52(8):1431-1435.
- [4] Hu S M, Xu S X, Yao X S, et al. Dauricoside, a new glycosidal alkaloid having an inhibitory against blood-platelet aggregation[J]. Chem Pharm Bull, 1993,41(10):1866-1869.
- [5] 郑晓敏,杨官娥,郑佳林,等. 山豆根类生药研究进展[J]. 山西职工医学院学报,2001,11(1):59-61.
- [6] 徐静华,于庆海,魏韶华,等. 北豆根总碱对环磷酰胺模型小鼠的免疫调节作用[J]. 沈阳药科大学学报,1999,16(1):20-24.
- [7] 崔燎,潘毅生. 粉防己碱和蝙蝠葛碱对人白血病细胞株 HL-60 和 K562 的生长抑制作用[J]. 中国药理学通报,1995,11(6):478-481.
- [8] 冯克燕,周际安,龚培力,等. 蝙蝠葛碱治疗心律失常的临床观察[J]. 中华心血管病杂志,1984,12(4):265-267.
- [9] 龚培力,杜佐华,曾繁典,等. 蝙蝠葛酚性碱的抗心律失常作用[J]. 中药新药与临床药理,1995,6(3):13-16.
- [10] 衣涛,朴仁哲,李熙峰,等. 东北北豆根提取液的农药活性探讨[J]. 延边大学学报(自然科学版),2008,34(3):203-205.
- [11] Kunitomo J, Satoh M, Shingu T. Structure and synthesis of menisporphine, a new type of isoquinoline alkaloid: alkaloids of *menispermum dauricum* DC. (9) [J]. Tetrahedron, 1983, 39 (20): 3261-3265.
- [12] Takani M, Takasu Y, Takahashi K, et al. Studies on constituents of medicinal plants. XXIII. constituents of the vines of *menispermum dauricum* DC. (2) [J]. Chem Pharm Bull, 1983,31(9):3091-3093.