

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202108051

阳丙媛, 何瑞杰, 王亚凤, 等. 山豆根地上部分的酪氨酸酶抑制活性成分筛选研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(9): 1448–1453.

YANG BY, HE RJ, WANG YF, et al. Chemical constituents from the aerial parts of *Sophora tonkinensis* and their tyrosinase inhibitory activities [J]. *Guihaia*, 2022, 42(9): 1448–1453.



# 山豆根地上部分的酪氨酸酶抑制活性成分筛选研究

阳丙媛, 何瑞杰, 王亚凤, 黄永林\*

(广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西 桂林 541006)  
中国科学院

**摘要:** 壮药山豆根, 为豆科植物越南槐 (*Sophora tonkinensis*) 的干燥根和根茎, 是非常重要的广西地道药材。为了更加合理地开发利用山豆根的地上部分, 阐明其化学物质基础, 该研究采用多种现代色谱分离方法对山豆根地上部分进行了系统分离, 并通过现代波谱学方法对分离得到的单体化合物进行了结构鉴定, 同时测试了单体化合物对酪氨酸酶的抑制活性。结果表明: (1) 从山豆根地上部分分离得到 10 个化合物, 分别为水杨酸(1)、对羟基苯甲酸(2)、木犀草素(3)、8-异戊烯基山萘酚(4)、槲皮素(5)、大豆素(6)、芒柄花素-7-O-β-D-葡萄糖苷(7)、刺芒柄花素(8)、鸢尾黄素(9)、金雀异黄素(10), 所有化合物均首次从山豆根的地上部分中分离得到; (2) 酪氨酸酶抑制活性的试验测试结果表明化合物 4、7 和 9 对酪氨酸酶均具有较强的抑制作用, 其中化合物 4 的酪氨酸酶抑制活性最强,  $IC_{50}$  值为  $(1.58 \pm 0.31) \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该研究丰富了山豆根地上部分的化学物质基础及其生物活性, 为山豆根非药用部位的深入开发利用奠定了基础。

**关键词:** 壮药, 山豆根, 地上部分, 化学成分, 酪氨酸酶

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)09-1448-06

## Chemical constituents from the aerial parts of *Sophora tonkinensis* and their tyrosinase inhibitory activities

YANG Bingyuan, HE Ruijie, WANG Yafeng, HUANG Yonglin\*

(Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals Research and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

**Abstract:** Zhuang medicine Shandougen, the dry radix and rhizome of the plant *Sophora tonkinensis* from the Leguminosae family, is one of the most important and famous traditional Chinese medicine in Guangxi Zhuang

收稿日期: 2021-10-01

基金项目: 国家自然科学基金(32060108, 82060764); 广西自然科学基金(2018GXNSFAA294033, 2018GXNSFAA281078); 中国博士后专项基金(200626); 广西创新驱动发展专项基金(桂科 AA18118015); 广西植物功能物质研究与利用重点实验室开放基金(ZRJJ2020-2); 广东省重点领域研发计划资助(2020B1111110003) [Supported by National Natural Science Foundation of China (32060108, 82060764); Natural Science Foundation of Guangxi (2018GXNSFAA294033, 2018GXNSFAA281078); China Postdoctoral Science Foundation (200626); Guangxi Special Fund of Innovation-Driven Development (GuiKe AA18118015); Open Fund Project of Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemical Research and Utilization (ZRJJ2020-2); Key-Area Research and Development Program of Guangdong Province (2020B1111110003)].

第一作者: 阳丙媛(1990-), 硕士, 助理研究员, 主要从事天然产物研究与开发, (E-mail) 616480587@qq.com。

\*通信作者: 黄永林, 博士, 研究员, 主要从事天然产物研究与开发, (E-mail) 358047552@qq.com。

Autonomous Region and also distributed in Yunnan and Guizhou provinces. According to the “Chinese Pharmacopoeia 2020”, Shandougen is used for clearing heat, removing toxicity, relieving sore throat and detumescence. In order to develop and utilize the aerial parts of *S. tonkinensis* more reasonably and scientifically, the studies for chemical constituents and their tyrosinase inhibitory activities of the aerial parts of *S. tonkinensis* were performed. Some modern chromatographic methods for the separation of chemical constituents were carried out, such as high-performance liquid chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, MCI gel CHP 20P column chromatography, silica gel column chromatography, and thin layer chromatography. The structures of the pure compounds were established on the basis of their spectroscopic data, including the spectra of HR-ESI-MS,  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR. In addition, the isolated compounds were evaluated for their tyrosinase inhibitory activities through modern pharmacological methods. The results were as follows: (1) Ten compounds were separated from the aerial parts of *S. tonkinensis* and their structures were identified as salicylic acid (1), 4-hydroxybenzoic acid (2), luteolin (3), 8-prenylkaempferol (4), quercetin (5), daidzein (6), formononetin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside (7), formononetin (8), tectorigenin (9), and genistein (10). All these compounds were isolated from the aerial parts of *S. tonkinensis* for the first time; (2) Compounds 4, 7 and 9 showed strong inhibitory effects toward tyrosinase after the evaluation for their biological activity. Particularly, Compound 4 showed the strongest inhibitory activity with the  $\text{IC}_{50}$  value of  $(1.58 \pm 0.31) \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Compounds 4, 7 and 9 could be a potential tyrosinase inhibitor after the analysis of bioactivity results. The above results enrich the previous studies on the chemical constituents and biological activities of the aerial parts of *S. tonkinensis*, further providing the scientific basis for the development and utilization of the non-medicinal parts of this herb.

**Key words:** Zhuang medicine, *Sophora tonkinensis*, aerial part, chemical constituents, tyrosinase

壮药山豆根,为豆科植物越南槐(*Sophora tonkinensis*)的干燥根和根茎(王杰,2019),主要分布于广西、云南、贵州等地(周思雨等,2021),现收载于2020版中国药典,具有清热解毒,消肿利咽等功效,主治火毒蕴结、乳蛾喉痹、咽喉肿痛、牙龈肿痛、口舌生疮(中华人民共和国药典,2020)。经文献调研,对山豆根药用部位的化学成分和药理活性的研究报道较多,分离鉴定出的化合物主要包括生物碱类、黄酮类、三萜类、蒽醌类、酚酸类等(周思雨等,2021;魏鑫等,2021;Hou et al., 2020;潘其明等,2016;李行诺等,2009),相关的药理活性研究涉及抗肿瘤、抗炎、护肝等(周思雨等,2021);而对其地上部分的相关研究却鲜有报道。山豆根作为常用中药材,一般3~4年才能采收(彭红华等,2014),生长周期较长;山豆根的药用部位为其根和根茎,其地上部分被作为非药用部位丢弃,造成了资源的浪费;地上部分作为山豆根植株不可或缺的重要器官,对其次生代谢产物的产生、运输和储存具有重要意义。因此,探究其地上部分的化学物质基础和生物活性,对提高山豆根全植株的利用率具有重要意义。本研究以壮药山豆根的地上部分为研究对象,依托完善的天然产物开发研究平台,综合运用现代色谱分离手段、现代

波谱学方法和现代药理学方法,拟探讨以下问题:(1)山豆根地上部分包含的化学成分有哪些;(2)山豆根地上部分含有的化学成分具有什么生物活性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

山豆根的地上部分于2018年11月采自广西壮族自治区百色市那坡县,经广西大学的黄荣韶教授鉴定为越南槐(*Sophora tonkinensis*)的地上部分,保存于广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室,标本编号为20181103。

### 1.2 仪 器 和 试 剂

500 MHz 核磁共振波谱仪(型号: Bruker Avance III HD;生产厂家:瑞士布鲁克公司)、高速逆流色谱仪(型号:TBE-300C;生产厂家:上海同田生物技术股份有限公司)、恒流泵(型号:TBP5002 TAUTO;生产厂家:上海同田生物技术股份有限公司)、恒温循环器(型号:TC-1050;生产厂家:上海同田生物技术股份有限公司)、紫外检测仪(型号:UV100;生产厂家:赛谱锐思科技有限公司)、真空离心浓缩仪(型号:QUC-23050-J00;生产厂家:英

国 Genevac 公司)、系统控制器(型号:CBM-20A;生产厂家:日本岛津公司)、脱气机(型号:DGU-20A5;生产厂家:日本岛津公司)、高效液相色谱仪(型号:LC-20AT;生产厂家:日本岛津公司)、光电二极管阵列检测器(型号:SPD-M20A;生产厂家:日本岛津公司)、分析天平(型号:XS205 DualRange;生产厂家:瑞士苏黎世梅特勒-托利多集团)、电喷雾质谱(型号:BRUKER HCT;生产厂家:美国布鲁克道尔顿公司)、高分辨质谱(型号:LCMS-IT-TOF;生产厂家:日本岛津公司)、多功能荧光酶标仪(型号:SP-MAX3500FL;生产厂家:上海闪谱生物科技有限公司)。

甲醇(生产厂家:西陇化工股份有限公司);20×PBS(生产厂家:北京索莱宝科技有限公司);左旋多巴、曲酸和 L-酪氨酸酶(生产厂家:上海源叶生物科技有限公司)。

### 1.3 实验方法

1.3.1 提取与分离 山豆根地上部分(茎和叶)7.8 kg,切成小段后用 70%乙醇浸泡提取 3 次,每次 7 d,将提取液合并后减压浓缩至无醇味,再依次使用石油醚、乙酸乙酯进行萃取,将各萃取部分溶液旋干称重,分别得到石油醚部位浸膏(30 g)、乙酸乙酯部位浸膏(90 g)、水部位浸膏(400 g)。取乙酸乙酯部分浸膏经 MCI gel CHP 20P(8.0 cm × 25.0 cm)柱层析,使用甲醇-水(0%~100%,V/V)梯度洗脱,再经薄层色谱(TLC)检测合并得到 7 个组分 FrB1-7。

FrB1(25.8 g)首先由 C<sub>18</sub>(5.0 cm × 16.0 cm)柱层析分离,甲醇-水(0%~100%,V/V)梯度洗脱,经 TLC 检测,合并相同组分后得到亚组分 FrB11-114。FrB13 经反复 Sephadex LH-20 柱(2.0 cm × 25.0 cm),以二氯甲烷-甲醇(1:1,V/V)为流动相,分离得化合物 1(6 mg);FrB110 经半制备型 HPLC,以甲醇-水(86:14,V/V)洗脱,分离得化合物 4(6 mg)。FrB2(12.4 g)经 Diaion HP20SS 柱、Sephadex LH-20 柱得到化合物 3(14 mg)。FrB3(9.8 g)经 Sephadex LH-20 柱层析、半制备型 HPLC 得到化合物 5(12 mg)和化合物 10(56 mg)。FrB4(6.5g)经 Diaion HP20SS 柱、Chromatorex C<sub>18</sub>柱得到化合物 2(5 mg)和化合物 6(19 mg)。FrB6(13.7 g)由 Sephadex LH-20、硅胶柱,纯化得到化合物 7(25 mg)、化合物 8(24 mg)、化合物 9(33 mg)。

1.3.2 酪氨酸酶抑制实验 酪氨酸酶的抑制活性测定参考已报道的方法(Takashi et al., 1997),以磷酸缓冲液为溶剂,左旋多巴为底物(1 mg · mL<sup>-1</sup>),曲酸为阳性对照,蘑菇酪氨酸酶配制成 100 U · mL<sup>-1</sup>。实验分为 4 个组:样品组 A<sub>1</sub>、样品背景对照组 A<sub>2</sub>、空白组 B<sub>1</sub>、空白对照组 B<sub>2</sub>。

先向 96 孔板中依次加入样品溶液 20 μL 和酪氨酸酶溶液 10 μL,每个样品孔均设置 3 个复孔做平行对照,混合均匀后置于 37 °C 水浴中孵育 10 min,接着加入 40 μL 的左旋多巴溶液,继续于 37 °C 水浴中孵育 5 min 后,于 475 nm 波长下测定吸光度值,得到样品组吸光度值 A<sub>1</sub>;以 10 μL 的磷酸缓冲液(PBS)替代 10 μL 的酪氨酸酶溶液,重复以上步骤,测得样品背景对照组吸光度值 A<sub>2</sub>;以 20 μL 的 PBS 替代 20 μL 的样品溶液,测得空白组吸光度值 B<sub>1</sub>;以 30 μL 的 PBS 替代 20 μL 的样品溶液和 10 μL 的酪氨酸酶溶液,测得空白对照组吸光度值 B<sub>2</sub>。所有试验均重复 3 次。

按照如下公式计算酪氨酸酶抑制率,即:

$$\text{抑制率} = [1 - (A_1 - A_2) / (B_1 - B_2)] \times 100\%$$

使用 Statistical Product and Service Solutions 软件处理,计算出相对应的 IC<sub>50</sub> 值,试验数据结果以“平均值±标准偏差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 化合物结构鉴定

化合物 1 白色粉末。HR-ESI-MS *m/z*: 139.039 6 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.88 (1H, dd, *J*=7.8, 1.7 Hz, H-6), 7.50 (1H, dt, *J*=7.8, 1.7 Hz, H-4), 6.96~6.86 (2H, m, H-3, 5); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 172.5 (-COOH), 162.7 (C-2), 136.5 (C-4), 131.1 (C-6), 119.8 (C-5), 117.8 (C-1), 113.1 (C-3)。通过与文献(王丹等,2019)对比,确定化合物 1 为水杨酸。

化合物 2 白色针状结晶。HR-ESI-MS *m/z*: 139.039 3 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 7.90 (2H, d, *J*=8.7 Hz, H-2, 6), 6.91 (2H, d, *J*=8.7 Hz, H-3, 5); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, Acetone-*d*<sub>6</sub>) δ: 167.7 (-COOH), 162.6 (C-4), 132.7 (C-2, 6), 122.6 (C-1), 115.9 (C-3, 5)。通过与文献(谢雪等,2016)对比,确定化合物

2 为对羟基苯甲酸。

化合物 3 黄色针晶。HR-ESI-MS  $m/z$ : 287.068 2  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 12.94 (1H, s, 5-OH), 7.38~7.40 (2H, m, H-2', 6'), 6.89 (1H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-5'), 6.63 (1H, s, H-3), 6.43 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 6.18 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 181.8 (C-4), 164.3 (C-2), 164.1 (C-9), 172.5 (C-7), 157.5 (C-5), 149.8 (C-3'), 145.9 (C-4'), 121.7 (C-6'), 119.1 (C-1'), 116.2 (C-5'), 113.5 (C-2'), 103.9 (C-3), 103.0 (C-10), 99.0 (C-6), 94.0 (C-8)。通过与文献(张艳丽等,2014)对比,确定化合物 3 为木犀草素。

化合物 4 黄色针晶。HR-ESI-MS  $m/z$ : 355.119 7  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ : 8.06 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, d,  $J = 8.9$  Hz, H-3', 5'), 6.20 (1H, s, H-6), 5.30~5.08 (1H, m, H-2''), 3.45 (2H, d,  $J = 6.7$  Hz, H-1''), 1.78 (3H, s, H-4''), 1.66 (3H, s, H-5''); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ : 177.5 (C-4), 162.7 (C-7), 160.4 (C-5), 160.0 (C-4'), 155.4 (C-9), 147.9 (C-2), 136.9 (C-3), 132.4 (C-3''), 130.7 (C-2', 6'), 124.1 (C-1'), 124.1 (C-2''), 116.3 (C-3', 5'), 107.6 (C-8), 104.5 (C-10), 98.8 (C-6), 25.9 (C-4''), 22.5 (C-1''), 18.2 (C-5'')。通过与文献(杨瑞云等,2010)对比,确定化合物 4 为 8-异戊烯基山萘酚。

化合物 5 黄色粉末。HR-ESI-MS  $m/z$ : 303.025 4  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ : 7.72 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-2'), 7.61 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.2$  Hz, H-6'), 6.87 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 6.37 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.17 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$ : 177.3 (C-4), 165.7 (C-7), 162.4 (C-9), 158.2 (C-5), 148.8 (C-2), 148.0 (C-4'), 146.2 (C-3'), 137.2 (C-3), 124.2 (C-1'), 121.7 (C-6'), 116.2 (C-5'), 116.0 (C-2'), 104.5 (C-10), 99.3 (C-6), 94.5 (C-8)。通过与文献(王呈文等,2014)对比,确定化合物 5 为槲皮素。

化合物 6 白色粉末。HR-ESI-MS  $m/z$ :

255.065 8  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.17 (1H, s, H-2), 7.93 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-5), 7.33 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-2', 6'), 6.90 (1H, m, H-8), 6.82 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz, H-6), 6.79 (2H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-3', 5'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 175.4 (C-4), 162.9 (C-7), 157.9 (C-9), 157.5 (C-4'), 153.3 (C-2), 130.5 (C-2', 6'), 128.6 (C-5), 124.0 (C-3), 123.0 (C-1'), 117.0 (C-10), 115.7 (C-3', 5'), 115.5 (C-6), 102.5 (C-8)。通过与文献(周杰等,2013)对比,确定化合物 6 为大豆素。

化合物 7 淡黄色粉末。HR-ESI-MS  $m/z$ : 431.134 5  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.36 (1H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-2), 8.04 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz, H-5), 7.49 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-2', 6'), 7.21 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-8), 7.15 (1H, dd,  $J = 8.9, 2.1$  Hz, H-6), 6.97 (2H, d,  $J = 8.7$  Hz, H-3', 5'), 5.08 (1H, d,  $J = 7.1$  Hz, H-1''), 3.76 (3H, s, 4'-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 175.2 (C-4), 161.7 (C-7), 159.4 (C-4'), 157.4 (C-9), 153.9 (C-2), 130.3 (C-2', 6'), 127.3 (C-5), 124.1 (C-1'), 123.8 (C-3), 118.8 (C-10), 116.0 (C-6), 114.0 (C-3', 5'), 103.8 (C-8), 100.3 (C-1''), 77.4 (C-5''), 76.6 (C-3''), 73.4 (C-2''), 70.1 (C-4''), 61.0 (C-6''), 55.5 (4'-OCH<sub>3</sub>)。通过与文献(郑善松等,2011)对比,确定化合物 7 为芒柄花素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物 8 黄色针晶。HR-ESI-MS  $m/z$ : 269.046 5  $[M+H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.32 (1H, s, H-2), 7.97 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-5), 7.50 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-2', 6'), 6.98 (2H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-3', 5'), 6.94 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.3$  Hz, H-6), 6.87 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-8), 3.78 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 174.7 (C-4), 162.6 (C-7), 159.0 (C-4'), 157.5 (C-9), 153.1 (C-2), 130.1 (C-2', 6'), 127.3 (C-5), 124.3 (C-1'), 123.2 (C-3), 116.6 (C-10), 115.2 (C-6), 113.7 (C-3', 5'), 102.1 (C-8), 55.3 (4'-OCH<sub>3</sub>)。通过与文献(毕丹等,2018)对比,确定化合物 8 为刺芒柄花素。

化合物 9 白色针晶。HR-ESI-MS  $m/z$ :

301.071 0 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ: 8.05 (1H, s, H-2), 7.37 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, H-2', 6'), 6.84 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, H-3', 5'), 6.44 (1H, s, H-8), 3.87 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ: 182.5 (C-4), 158.9 (C-5), 158.7 (C-4'), 155.0 (C-7), 154.8 (C-9), 154.6 (C-2), 132.9 (C-6), 131.4 (C-2', 6'), 124.2 (C-1'), 123.3 (C-3), 116.3 (C-3', 5'), 106.7 (C-10), 95.0 (C-8), 60.9 (6-OCH<sub>3</sub>)。通过与文献(邱鹰昆等,2006)对比,确定化合物 **9** 为鸢尾黄素。

化合物 **10** 淡黄色针状结晶。HR-ESI-MS *m/z*: 271.060 8 [M+H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 12.94 (1H, s, OH-5), 8.26 (1H, s, H-2), 7.33 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', H-6'), 6.84 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', H-5'), 6.36 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.21 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 180.3 (C-4), 164.3 (C-7), 162.1 (C-4'), 157.7 (C-5), 157.5 (C-9), 153.9 (C-2), 130.2 (C-2', 6'), 122.4 (C-1'), 121.3 (C-3), 115.2 (C-3', 5'), 104.6 (C-10), 99.0 (C-6), 93.7 (C-8)。通过与文献(向槿等,2020)对比,确定化合物 **10** 为金雀异黄素。

## 2.2 酪氨酸酶抑制活性测试结果

以“1.3.2”所述方法测定化合物 **4**、**7** 和 **9** 的酪氨酸酶抑制活性,测试结果见表 1。结果显示,与阳性对照相比,化合物 **4** 表现出较强的酪氨酸酶抑制活性,IC<sub>50</sub> 值为  $(1.58 \pm 0.31) \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 化合物 **9** 对酪氨酸酶的抑制作用与阳性对照相当; 化合物 **7** 对酪氨酸酶的抑制作用稍弱于阳性对照。

表 1 酪氨酸酶抑制活性的测试结果

Table 1 Results of tyrosinase inhibitory activity

化合物 Compound	IC <sub>50</sub> ± SD (mol · L <sup>-1</sup> )
<b>4</b>	$(1.58 \pm 0.31) \times 10^{-5} **$
<b>7</b>	$(7.82 \pm 0.28) \times 10^{-4} *$
<b>9</b>	$(3.73 \pm 0.45) \times 10^{-4} *$
曲酸 <sup>a</sup> Kojic acid <sup>a</sup>	$(3.82 \pm 0.52) \times 10^{-4}$

注: (1)<sup>a</sup> 阳性对照; (2) 与阳性对照组比较, \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01。

Note: (1)<sup>a</sup> Positive control; (2) Compared with positive control group, \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01.

## 3 讨论与结论

研究显示,一些中药的非药用部位与其药用部位具有相似的化学成分和疗效,可作为替代药物入药。例如,补益药人参的传统药用部位为干燥根和根茎,而其非药用部位叶因含有相同的有效成分人参皂苷 Rg1 和人参皂苷 Re,同样具有补气生津的功效,已被收载于中国药典(中华人民共和国药典,2020)。一些中药的非药用部位与其药用部位具有不同化学成分和生物活性,可为药物研发提供基础研究支持。例如,活血化瘀药西红花的传统药用部位为干燥柱头,有效成分为西红花苷,而其非药用部位含有黄酮、多酚、皂苷、生物碱等多种化学成分,具有抗炎、抗氧化、降血压和保肝等作用(陈娜和杨滨,2018)。一些中药的非药用部位可用于制造化妆品、食品、兽药等(赵晖和苗明三,2019)。由此可见,中药的非药用部位具有巨大的开发潜力和应用前景;同时,利用好非药用部位,能避免药材资源的浪费,有利于实现中药资源的可持续发展。具有清热解毒功效的山豆根,其药用部位为根和根茎,有效成分为苦参碱和氧化苦参碱(中华人民共和国药典,2020),而本研究首次阐明了山豆根地上部分含有黄酮类和酚酸类化合物,并发现这类化合物具有较好的酪氨酸酶抑制活性,是潜在的酪氨酸酶抑制剂。以上研究结果揭示了山豆根地上部分的化学物质基础及其生物活性,为进一步开发利用山豆根的非药用部位提供了科学依据。

## 参考文献:

- BI D, SUN YB, SONG LQ, et al., 2018. Study of chemical components from Lianhua Qingwen Capsule (I) [J]. Chin Trad Herb Drugs, 49(4): 795-800. [毕丹, 孙云波, 宋联强, 等, 2018. 莲花清瘟胶囊化学成分研究(I) [J]. 中草药, 49(4): 795-800.]
- CHEN N, YANG B, 2018. Research progress of chemical components and pharmacological effects of non-medicinal parts of *Crocus sativus* [J]. Chin J Chin Mat Med, 43(14): 2884-2891. [陈娜, 杨滨, 2018. 西红花非药用部位化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 43(14): 2884-2891.]
- Chinese Pharmacopoeia Commission, 2020. Chinese pharmacopoeia [M]. Beijing: China Medical Science Press;

- 9, 28. [国家药典委员会, 2020. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社: 9, 28.]
- HOU MY, HU WZ, HAO KX, et al., 2020. Flavonoids and phenolic acids from the roots of *Sophora tonkinensis* Gagnep [J]. *Biochem Syst Ecol*, 89: 104011.
- LI XN, YAN HX, PANG XY, et al., 2009. Chemical constituents of flavonoids from rhizome of *Sophora tonkinensis* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 34(3): 282-285. [李行诺, 闫海霞, 庞晓雁, 等, 2009. 山豆根中黄酮化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 34(3): 282-285.]
- PENG HH, JIANG CY, LIN W, et al., 2014. Comparison of matrine and oxymatrine in radix *Sophora subprostrata* of different growing years [J]. *Chin J Exp Trad Med Form*, 20(8): 72-75. [彭红华, 蒋嫦月, 林吴, 等, 2014. 不同生长年限山豆根中苦参碱和氧化苦参碱的含量比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 20(8): 72-75.]
- PAN QM, 2016. Studies on the chemical constituents of the rhizomes of *Sophora tonkinensis* and their bioactivities [D]. Guilin: Guangxi Normal University. [潘其明, 2016. 山豆根化学成分及生物活性的研究 [D]. 桂林: 广西师范大学.]
- QIU YK, GAO YB, XU BX, et al., 2006. Studies on chemical constituents of *Belamcanda chinensis* [J]. *Chin Pharm J*, 41(15): 1133-1135. [邱鹰昆, 高玉白, 徐碧霞, 等, 2006. 射干的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 41(15): 1133-1135.]
- TAKASHI T, NOBUKO U, HIDEOS, et al., 1997. Four new C-glycosidic ellagitannins, castacrenins D-G, from Japanese chestnut wood (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc.) [J]. *Chem Pharm Bull*, 45(11): 1751-1755.
- WANG J, 2019. Preliminary study and safety evaluation of the inhibition of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-1 by total flavonoids from rhizoma *Aristolochiae* [D]. Nanning: Guangxi University of Chinese Medicine. [王杰, 2019. 壮药壤笃总黄酮抑制鼻咽癌细胞株 CNE-1 作用的初步研究及安全性评价 [D]. 南宁: 广西中医药大学.]
- WANG D, WU XM, ZHANG DD, et al., 2019. Chemical constituents of carboxylic acid and its derivatives in *Cinnamomi ramulus* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 50(1): 8-12. [王丹, 吴喜民, 张东东, 等, 2019. 桂枝中羧酸及其衍生物的化学成分研究 [J]. 中草药, 50(1): 8-12.]
- WANG CW, CHEN GY, SONG XP, et al., 2014. Flavonoids from the roots of *Millettia speciosa* Champ [J]. *Chin Trad Pat Med*, 36(10): 2111-2114. [王呈文, 陈光英, 宋小平, 等, 2014. 牛大力中黄酮类成分 [J]. 中成药, 36(10): 2111-2114.]
- WEI X, ZHANG W, DING CF, et al., 2021. Chemical constituents from the *n*-butanol extract of *Sophora tonkinensis* and their antibacterial activities [J]. *Guihaia*, 41(7): 1054-1060. [魏鑫, 张卫, 丁彩凤, 等, 2021. 山豆根正丁醇部位化学成分及其抗菌活性研究 [J]. 广西植物, 41(7): 1054-1060.]
- XIANG J, RUAN CL, LIU D, et al., 2020. Chemical constituents from *Rhynchosia volubilis* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 51(5): 1183-1189. [向瑾, 阮长磊, 刘丹, 等, 2020. 鹿藿的化学成分研究 [J]. 中草药, 51(5): 1183-1189.]
- XIE X, ZHANG HD, WEN JH, et al., 2016. Studies on chemical constituents in Guizhi Fuling Capsule (VI) [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 47(21): 3795-3797. [谢雪, 张宏达, 温建辉, 等, 2016. 桂枝茯苓胶囊化学成分研究 (VI) [J]. 中草药, 47(21): 3795-3797.]
- YANG RY, LAN YS, HR RJ, et al., 2010. Flavonoids from *Sophora subprostrata* [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*, 21(6): 1350-1351. [杨瑞云, 兰艳素, 何瑞杰, 等, 2010. 广豆根中黄酮类成分研究 [J]. 时珍国医国药, 21(6): 1350-1351.]
- ZHAO H, MIAO MS, 2019. Analysis and reflection on comprehensive utilization of non-medicinal parts of Chinese materia medica [J]. *Chin J Trad Chin Med Pharm*, 34(8): 3589-3591. [赵晖, 苗明三, 2019. 中药非药用部位综合利用的分析与思考 [J]. 中华中医药杂志, 34(8): 3589-3591.]
- ZHANG YL, FENG ZY, ZHENG XK, et al., 2014. Chemical constituents from the leaves of *Rehmannia glutinosa* Libosch [J]. *Chin Pharm J*, 49(1): 15-21. [张艳丽, 冯志毅, 郑晓珂, 等, 2014. 地黄叶的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 49(1): 15-21.]
- ZHENG SS, WU T, WANG ZT, 2011. Chemical constituents from the roots of *Hedysarum polybotrys* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 36(17): 2350-2352. [郑善松, 吴弢, 王峥涛, 2011. 多序岩黄耆根化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 36(17): 2350-2352.]
- ZHOU SY, CHEN JP, LIU ZD, et al., 2021. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Sophora tonkinensis* Radix et Rhizome [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 52(5): 1510-1521. [周思雨, 陈金鹏, 刘志东, 等, 2021. 山豆根的化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 52(5): 1510-1521.]
- ZHOU J, SUN YR, DENG HM, et al., 2013. Chemical constituents of Xiaoke Pills [J]. *Chin Trad Pat Med*, 35(10): 2205-2209. [周杰, 孙一蕊, 邓海鸣, 等, 2013. 消渴丸化学成分的研究 [J]. 中成药, 35(10): 2205-2209.]