

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202203019

任文静, 马艳, 蔡梅超, 等. 2023. 北豆根化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 广西植物, 43(6): 1155–1162.

REN WJ, MA Y, CAI MC, et al., 2023. Chemical constituents from the rhizome of *Menispermum dauricum* and their anti-inflammatory activities [J]. *Guihaia*, 43(6): 1155–1162.

北豆根化学成分及其抗炎活性研究

任文静^{1,2}, 马艳¹, 蔡梅超¹, 王凤山³, 李莉⁴, 刘玉红^{1,2,4*}

(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 澳门科技大学中药质量研究国家重点实验室, 澳门 999078; 3. 国家药品监督管理局糖药物质量研究与评价重点实验室, 国家糖工程技术研究中心, 山东大学药学院, 济南 250012; 4. 泗水泗河源文化旅游开发有限责任公司, 山东 济宁 272000)

摘要: 北豆根, 防己科蝙蝠葛 (*Menispermum dauricum*) 的干燥根茎, 是重要的中药材。为阐明北豆根的药效物质基础, 该研究利用硅胶柱层析、大孔吸附树脂及高压制备 HPLC 等色谱技术对北豆根化学成分进行系统分离, 采用 NMR 等波谱技术对化合物进行结构鉴定, 并通过测定化合物对脂多糖 (LPS) 诱导的巨噬细胞 RAW264.7 释放 NO 和 IL-6 炎症因子的含量评价其抗炎活性。结果表明: (1) 从北豆根甲醇提取物中分离鉴定了 15 个化合物, 分别鉴定为对羟基苯甲醛 (1)、香草酸 (2)、丁香醛 (3)、2-羟基-1-(4-羟基-3,5-二甲氧基苯基)-1-丙酮 (4)、对羟基苯乙酸甲酯 (5)、2-(4-羟基苯基)-硝基乙烷 (6)、对羟基苯乙腈 (7)、邻苯二甲酸二丁酯 (8)、fragransin B₂ (9)、7-hydroxy-3,6-dimethoxy-1,4-phenanthraquinone (10)、棕榈酸 (11)、花生酸 (12)、 β -谷甾醇 (13)、 β -豆甾醇 (14)、胡萝卜苷 (15)。其中, 化合物 4-7、9、12 为首次从防己科植物中分离得到, 化合物 1、3-11、14 为首次从蝙蝠葛属植物中分离得到。上述化合物包括苯酚类、木脂素类、菲醌类、脂肪酸类及甾醇类。(2) 化合物 12 在 25、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下可以显著抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 和 IL-6 的释放, 具有潜在的抗炎作用。该研究结果丰富了北豆根的化学多样性, 明确了其抗炎活性的活性成分, 为药用植物资源的合理利用提供了有效参考。

关键词: 防己科, 北豆根, 化学成分, 结构鉴定, 抗炎活性

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2023)06-1155-08

Chemical constituents from the rhizome of *Menispermum dauricum* and their anti-inflammatory activities

REN Wenjing^{1,2}, MA Yan¹, CAI Meichao¹, WANG Fengshan³,
LI Li⁴, LIU Yuhong^{1,2,4*}

收稿日期: 2022-06-30

基金项目: 山东省自然科学基金 (ZR2019MH082); 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0024); 泰山产业领军人才工程专项 (tscy20200410); 国家药品监督管理局糖药物质量研究与评价重点实验室开放课题项目 (2021QRECM02)。

第一作者: 任文静 (1995-), 博士研究生, 研究方向为中药化学成分与活性, (E-mail) 1362402241@qq.com。

*通信作者: 刘玉红, 博士, 教授, 研究方向为天然药物化学成分与活性, (E-mail) yhliu@sducm.edu.cn。

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China; 3. NMPA Key Laboratory for Quality Research and Evaluation of Carbohydrate-Based Medicine, National Glycoengineering Research Center, School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China; 4. Sishui Siheyuan Culture and Tourism Development Co., Ltd., Sisui 273200, Shandong, China)

Abstract: Bei-dou-gen, the dried rhizome of *Menispermum dauricum* from the Menispermaceae family, is an important Chinese medicinal material. In order to clarify the pharmacodynamic substance basis, the methanol extract of the rhizome in *M. dauricum* was systematically isolated and purified using various chromatographic methods and the structures of isolated compounds were identified. The potential anti-inflammatory activity of obtained compounds from *M. dauricum* was measured *in vitro*. In this study, the chemical constituents were separated via silica gel column chromatography, macroporous adsorption resin and preparative HPLC, and their structures were determined on the basis of MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and other spectroscopic data analysis, as well as comparison with relevant literatures. Meanwhile, the anti-inflammatory activities of against NO and IL-6 production from LPS-induced RAW264.7 cells of the chemical components were evaluated *in vitro*. The results were as follows: (1) Fifteen compounds were isolated from the rhizome of *M. dauricum*, and identified as *p*-hydroxybenzaldehyde (1), vanillic acid (2), syringaldehyde (3), 2-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-1-propanone (4), methyl 4-hydroxyphenylacetate (5), 2-(4-hydroxyphenyl)-1-nitroethane (6), 4-hydroxyphenylacetonitrile (7), dibutyl phthalate (8), fragransin B₂(9), 7-hydroxy-3,6-dimethoxy-1,4-phenanthraquinone (10), palmitic acid (11), arachidic acid (12), β -sitosterol (13), β -stigmasterol (14) and daucosterol (15). Among them, compounds 4-7, 9 and 12 were isolated from Menispermaceae for the first time, while compounds 1, 3-11 and 14 were first reported from *Menispermum* genus. The above compounds were all non-alkaloids components, including phenols, lignans, phenanthraquinones, fatty acids and sterols. (2) Anti-inflammatory assay *in vitro* showed that Compound 12 could significantly inhibited releases of NO and IL-6 induced by LPS from RAW264.7 cells at the concentrations of 25 and 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, indicating potential anti-inflammatory activity. The results of this study enrich the chemical diversity of the rhizome of *M. dauricum* and clarifies the active ingredients of its anti-inflammatory activity, and provide effective reference for the rational utilization of medicinal plant resources.

Key words: Menispermaceae, rhizome of *Menispermum dauricum*, chemical constituents, structure identification, anti-inflammatory activity

北豆根系防己科蝙蝠葛属植物蝙蝠葛 (*Menispermum dauricum*) 的干燥根茎,原名为蝙蝠葛根(喻瑛瑛等,2019a)。主产于东北、华北、河北、山东、四川及陕西等地。北豆根气微、味苦、寒、有小毒,具有清热解毒、祛风止痛的功效,在民间广泛用于治疗肠炎、痢疾、风湿病和支气管炎等炎性疾病。目前已开发上市的北豆根总碱片、北豆根胶囊、复方北豆根氨酚那敏片及北豆根注射液等在临床上被广泛应用于扁桃体炎、牙龈肿痛、咽喉肿痛等疾病的治疗。此外,气雾剂、滴丸及复方制剂也普遍应用于临床(苏慧等,2015)。

北豆根在我国资源丰富,分布广泛,为药材资源的开发和临床应用提供了坚实基础。目前的研

究多集中于北豆根提取物或酚性碱,它们具有抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗脑缺血、免疫调节等药理作用(喻瑛瑛等,2019b;邵佳等,2019)。然而,蝙蝠葛碱、青藤碱等生物碱成分具有肾毒性和肝毒性,但其体内毒性过程、作用特点、作用机制尚不完全明确(孙蓉和王晨,2009)。因此,寻找具有良好活性的非生物碱类成分是必要的。为了丰富北豆根化学成分信息,更全面地阐明北豆根药效物质基础,也为了临床的安全用药及合理开发植物资源,本研究以北豆根为对象,依托药学研究平台,采用现代色谱分离手段、现代波谱学技术和现代药理学方法,拟探讨以下问题:(1)北豆根甲醇提取物的化学成分;(2)分离得到的部分化合物的体外抗炎活性。

1 材料与仪器

1.1 药材

实验用北豆根药材于 2018 年 10 月购自百味堂中药饮片科技有限公司(产地山东,批号:180506),经山东中医药大学李佳教授鉴定为防己科蝙蝠葛属植物蝙蝠葛的干燥根茎,药材标本保存于山东中医药大学天然药物实验室。

1.2 仪器和试剂

Bruker AV-400 (600 MHz) 核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);6540 UHD Q-TOF-MS 液相色谱质谱联用仪(美国安捷伦公司);Agilent 1290 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);艾杰尔 FL-H050G 高压液相制备色谱仪,Innoval ODS-2 制备柱(10 mm × 250 mm, 5 μm)(天津博纳艾杰尔科技有限公司);AB-8 型大孔吸附树脂(上海源叶生物科技有限公司);Sarto-rius BP211D 型电子天平(德国赛托利斯集团);柱层析硅胶、薄层层析硅胶(青岛海洋化工厂);氘代试剂(萨恩化学技术有限公司);NO、IL-6 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);小鼠巨噬细胞 RAW264.7(北纳创联生物科技有限公司, BNCC 101020)。

2 实验方法

2.1 提取和分离

将 9.2 kg 的北豆根药材粉碎成粗粉后,10 倍量甲醇冷浸 2 次,每次 15 d。将浸提液减压浓缩,得浸膏约 700.0 g,加适量蒸馏水悬浮,依次用正己烷(4.5 L)、乙酸乙酯(4.0 L)、正丁醇(3.5 L)进行萃取,将各级萃取液减压浓缩分别得到正己烷部位 49.8 g、乙酸乙酯部位 23.7 g、正丁醇部位 124.7 g 和水部位 417.8 g。

取正己烷部位浸膏 40.0 g,经正相硅胶柱色谱,采用正己烷-乙酸乙酯流动相(1:0,50:1,20:1,10:1,5:1,1:1,1:4,0:1,V/V)进行梯度洗脱。收集的流分经 TLC 检识,合并得 12 个组分 Fr. A-K。化合物 12(9.83 mg)经过甲醇反复重结晶从 Fr. C(3.0 g)中获得。Fr. E(3.0 g)经过硅胶柱色谱,以二氯甲烷-甲醇系统(200:1,150:1,100:

1,50:1,20:1,20:1,0:1,V/V)梯度洗脱得到 Fr. E1-E17。Fr. E6 经甲醇重结晶得到化合物 13(40.18 mg)和化合物 14(40.18 mg)。Fr. H(3.5 g)经硅胶柱层析,以石油醚-乙酸乙酯系统(1:0,50:1,20:1,10:1,5:1,1:1,0:1,V/V)梯度洗脱得到 Fr. H1-H20。Fr. H9 经高压反相色谱法,45%甲醇-水系统等度洗脱得化合物 11(19.65 mg, $t_R = 16.0$ min)。Fr. I(0.7 g)通过正相硅胶柱色谱,采用二氯甲烷-甲醇系统(200:1,150:1,100:1,50:1,20:1,10:1,0:1,V/V)梯度洗脱得到 Fr. I1-I17。Fr. I10 中析出白色片状固体经甲醇反复重结晶得到化合物 15(15.12 mg)。

取乙酸乙酯部位浸膏 20.0 g 进行硅胶柱色谱纯化,用二氯甲烷-甲醇系统(1:0,50:1,30:1,15:1,10:1,0:1,V/V)梯度洗脱,经 TLC 检识,合并流分得 Fr. L-Q。Fr. N(2.4 g)通过高压制备液相色谱(甲醇:水=33:67)分离纯化得化合物 5(2.03 mg, $t_R = 37.0$ min)和化合物 6(12.74 mg, $t_R = 22.0$ min)。Fr. O(12.4 g)经硅胶柱以二氯甲烷-甲醇系统(1:0,100:1,80:1,50:1,40:1,30:1,0:1,V/V)梯度洗脱得 Fr. O1-O9。Fr. O2(0.3 g)经过高压制备液相色谱,以 35%甲醇-水系统等度洗脱获得化合物 1(2.05 mg, $t_R = 26.0$ min)、化合物 3(1.91 mg, $t_R = 30.0$ min)、化合物 7(1.87 mg, $t_R = 10.0$ min),以 60%甲醇-水等度洗脱获得化合物 10(1.63 mg, $t_R = 35.0$ min)。经高压反相色谱法(甲醇:水=23:77)从 Fr. O3(0.4 g)中分离出化合物 2(16.72 mg, $t_R = 27.5$ min)和化合物 4(1.01 mg, $t_R = 35.9$ min)。Fr. O4(0.6 g)经高压制备液相色谱(甲醇:水=70:30)纯化获得化合物 9(2.76 mg, $t_R = 12.0$ min)。

取正丁醇部位浸膏 90.0 g,经 AB-8 型大孔吸附树脂(10%、30%、50%、70%、90%乙醇依次洗脱至接近无色)并收集流分,经减压浓缩得 Fr. R-V。Fr. V(0.6 g)经高压制备液相色谱(甲醇:水=77:23)纯化获得化合物 8(3.35 mg, $t_R = 34.0$ min)。

化合物 1-15 的化学结构如图 1 所示。

2.2 体外抗炎活性测试

将 RAW264.7 细胞以 1×10^5 个 · mL⁻¹ 密度接种于 96 孔板中,每孔 100 μL,培养 24 h,加入含药培养基。实验组别设置为正常组(不做处理)、模

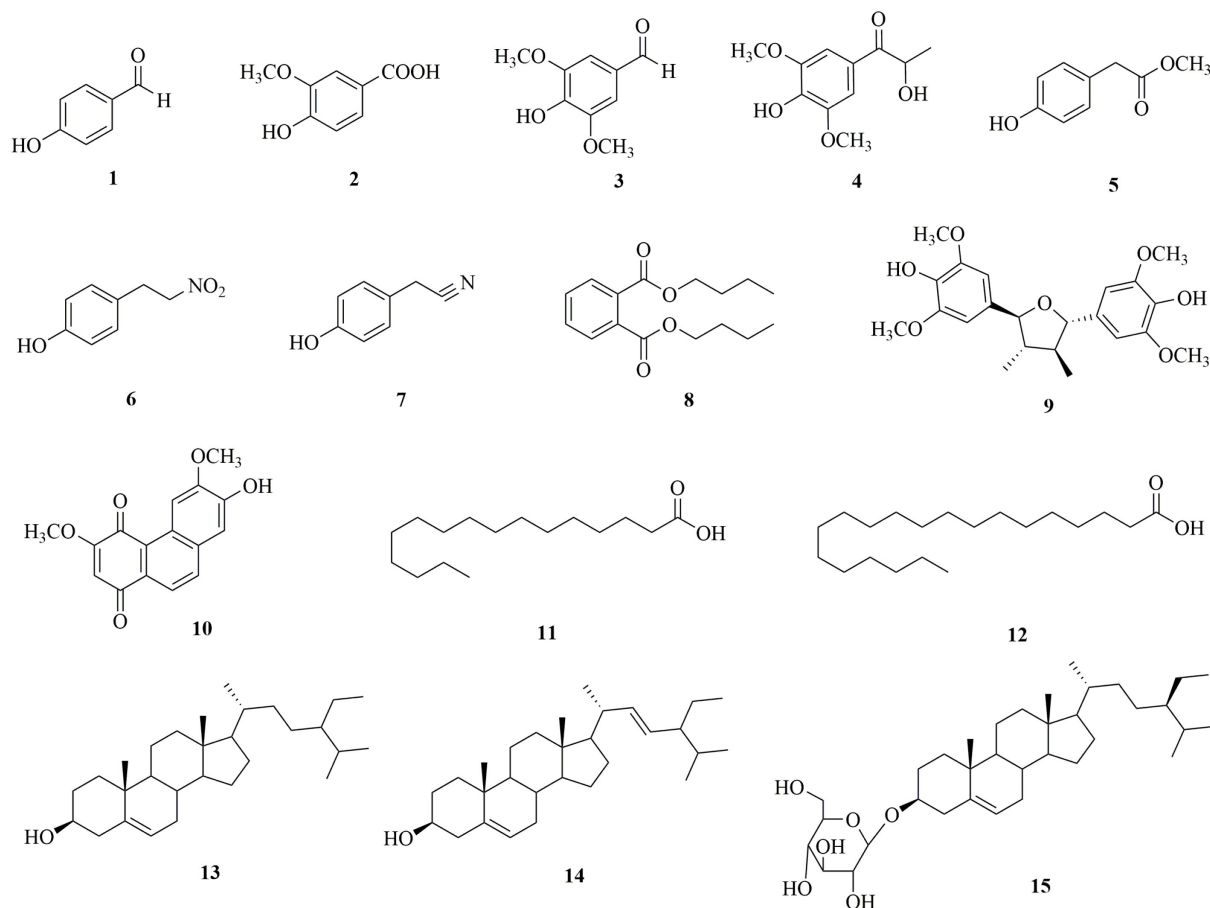


图 1 化合物 1-15 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-15

型组、阳性对照组 (25、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 槲皮素) 和样品组 (25、50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 不同化合物), 每组 5 个复孔。正常组和模型组加入不含药培养基, 药物组加入含药培养基, 孵育细胞 1 h 后, 除正常组外, 其他各组均加入 LPS 使其终浓度为 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 继续孵育细胞 24 h, 收集细胞上清液, 离心取上清液, 按照试剂盒说明书检测 (陈千, 2020) NO 和 IL-6。同一批次的细胞采用 MTT 法对细胞活力进行测定。计算公式:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{(OD_{\text{正常对照组}} - OD_{\text{样品组}})}{(OD_{\text{正常对照组}} - OD_{\text{空白组}})} \times 100。$$

3 结果与分析

3.1 结构鉴定

化合物 1 无色结晶 (丙酮)。m.p. 113~114

$^{\circ}\text{C}$ 。C₇H₆O₂, ESI-MS m/z : 121.0 [M - H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 9.76 (1H, s, H-7), 7.78 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2, 6), 6.91 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3, 5)。¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 130.5 (C-1), 133.6 (C-2, 6), 117.0 (C-3, 5), 165.4 (C-4), 193.0 (C-7)。以上数据与文献 (张春花等, 2020) 对照基本一致, 故鉴定该化合物为对羟基苯甲醛。

化合物 2 浅粉色无定形粉末 (甲醇)。m.p. 198 ~ 200 $^{\circ}\text{C}$ 。C₈H₈O₄, ESI-MS m/z : 169.1 [M + H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.55 (1H, br s, H-6), 7.54 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.83 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 3.82 (3H, s, OCH₃-1)。¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 122.5 (C-1), 113.9 (C-2), 152.7 (C-3), 148.8 (C-4), 16.0 (C-

5), 125.4 (C-6), 170.5 (COOH), 56.5 (OCH₃-1)。以上数据与文献(何康等, 2021)对照基本一致, 故鉴定该化合物为香草酸。

化合物 3 无色晶体(氯仿)。m.p. 110~112 °C。C₉H₁₀O₄, ESI-MS *m/z*: 183.1 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 9.74(1H, s, H-7), 7.23(2H, s, H-2, 6), 3.92(6H, s, OCH₃-3, 5)。¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 129.0(C-1), 108.3(C-2, 6), 149.7(C-3, 5), 140.9(C-4), 193.0(C-7), 56.9(OCH₃-3, 5)。以上数据与文献(张春花等, 2020)对照基本一致, 故鉴定该化合物为丁香醛。

化合物 4 白色无定形粉末(甲醇)。m.p. 126~127 °C。C₇H₆O₂, ESI-MS *m/z*: 121.0 [M - H]⁻。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 7.32(2H, s, H-2, 6), 5.19(1H, q, *J* = 6.9 Hz, H-8), 3.90(6H, s, OCH₃-3, 5), 1.49(3H, d, *J* = 6.9 Hz, CH₃-8)。¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 126.3(C-1), 107.8(C-2, 6), 149.3(C-3, 5), 143.2(C-4), 202.1(C-7), 70.2(C-8), 57.1(OCH₃-3, 5), 22.2(CH₃-8)。以上数据与文献(遆慧慧等, 2015)对照基本一致, 故鉴定该化合物为2-羟基-1-(4-羟基-3, 5-二甲氧基苯基)-1-丙酮。

化合物 5 淡黄色粉末(氯仿)。m.p. 119~120 °C。C₉H₁₀O₃, ESI-MS *m/z*: 167.0 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 7.16(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.72(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5), 3.66(3H, s, OCH₃-8), 3.52(2H, s, H-7)。¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 126.4(C-1), 131.4(C-2, 6), 116.4(C-3, 5), 157.4(C-4), 40.9(C-7), 174.6(C-8), 52.5(OCH₃-8)。以上数据与文献(莫胡青等, 2020)对照基本一致, 故鉴定该化合物为对羟基苯乙酸甲酯。

化合物 6 黄色油状物(氯仿)。m.p. 107~108 °C。C₈H₉O₃N, ESI-MS *m/z*: 166.1 [M - H]⁻。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 7.05(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2, 6), 6.77(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5), 4.55(2H, t, *J* = 7.4 Hz, H-8), 3.21(2H, t, *J* = 7.4 Hz, H-7)。¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃) δ: 128.0(C-1), 130.1(C-2, 6), 116.0(C-3, 5), 155.1(C-4), 32.9(C-7), 76.8(C-8)。以上数据与文献(孙彦君等, 2012)对照基本一致, 故鉴定该化合物为2-(4-羟

苯基)-硝基乙烷。

化合物 7 白色粉末(甲醇)。m.p. 66~67 °C。C₈H₇ON, ESI-MS *m/z*: 134.1 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 7.15(2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3, 5), 6.78(2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2, 6), 3.75(2H, s, H-7)。¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 158.5(C-1), 116.9(C-2, 6), 130.4(C-3, 5), 120.3(C-4), 22.8(C-7), 122.9(C-8)。以上数据与文献(张普照等, 2016)对照基本一致, 故鉴定该化合物为对羟基苯乙腈。

化合物 8 无色油状物(甲醇)。m.p. 149~150 °C。C₁₆H₂₂O₄, ESI-MS *m/z*: 279.1 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 7.72(2H, dd, *J* = 5.7, 3.3 Hz, H-3, 6), 7.61(2H, dd, *J* = 5.7, 3.3 Hz, H-4, 5), 4.29(4H, t, *J* = 6.6 Hz, H-8, 8'), 1.71(4H, m, H-9, 9'), 1.45(4H, m, H-10, 10'), 0.98(6H, t, *J* = 7.4 Hz, H-11, 11')。¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 133.7(C-1, 2), 130.0(C-3, 6), 132.5(C-4, 5), 169.5(C-7, 7'), 66.8(C-8, 8'), 31.9(C-9, 9'), 20.4(C-10, 10'), 14.2(C-11, 11')。以上数据与文献(莫胡青等, 2020)对照基本一致, 故鉴定该化合物为邻苯二甲酸二丁酯。

化合物 9 白色无定形粉末(氯仿)。m.p. 153~155 °C。C₁₁H₁₄O₅, ESI-MS *m/z*: 227.2 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 6.69(4H, br s, H-2, 2', 6, 6'), 4.64(2H, m, H-7, 7'), 3.86(12H, s, OCH₃-3, 3', 5, 5'), 1.82(2H, m, H-8, 8'), 1.04(6H, d, *J* = 6.0 Hz, C-9, 9')。¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 134.0(C-1, 1'), 104.9(C-2, 2', 6, 6'), 149.3(C-3, 3', 5, 5'), 136.3(C-4, 4'), 90.4(C-7, 7'), 52.1(C-8, 8'), 56.8(OCH₃-3, 3', 5, 5'), 14.0(C-9, 9')。以上数据与文献(李小珍等, 2017)对照基本一致, 故鉴定该化合物为 fragransin B₂。

化合物 10 红棕色针形晶体(甲醇)。m.p. 243~244 °C。C₁₆H₁₂O₅, ESI-MS *m/z*: 285.0 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 9.04(1H, s, H-5), 8.00(1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-9), 7.93(1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-10), 7.23(1H, s, H-8), 6.05(1H, s, H-2), 4.05(3H, s, OCH₃-6), 3.87(3H, s, OCH₃-3)。¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 185.8(C-1), 107.6

(C-2), 160.9 (C-3), 183.4 (C-4), 134.2 (C-4a), 126.4 (C-4b), 105.8 (C-5), 151.3 (C-6), 147.8 (C-7), 110.3 (C-8), 124.8 (C-8a), 134.1 (C-9), 121.1 (C-10), 131.3 (C-10a), 56.8 (OCH₃-3), 56.4 (OCH₃-6)。以上数据与文献(Zhang et al., 2004)对照基本一致,故鉴定该化合物为 7-hydroxy-3,6-dimethoxy-1,4-phenanthraquinone。

化合物 11 白色颗粒状结晶(氯仿-甲醇)。m.p. 60 ~ 62 °C。C₁₆H₃₂O₂, ESI-MS *m/z*: 255.2 [M-H]⁻。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 2.32 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2), 1.61 (2H, m, H-3), 1.28 (24H, m, H-4~15), 0.86 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, H-16)。¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃) δ: 34.2 (C-1), 24.9 (C-2), 29.3~29.9 (C-3-12), 32.2 (C-13), 22.0 (C-14), 14.3 (C-15), 179.9 (C=O)。以上数据与文献(张纪越等, 2020)对照基本一致,故鉴定该化合物为棕榈酸。

化合物 12 白色粉末(石油醚-乙酸乙酯)。m.p. 75 ~ 76 °C。C₂₀H₄₀O₂, ESI-MS *m/z*: 311.2 [M-H]⁻。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 0.86 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃-20), 1.21~1.34 (32H, m, CH₂-3~19), 1.61 (2H, m, CH₂-3), 2.35 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, CH₂-2)。¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃) δ: 179.4 (C-1), 34.1 (C-2), 24.9 (C-3), 32.2 (C-4), 29.3~29.9 (C-5-18), 22.9 (C-19), 14.3 (C-20)。以上数据与文献(Li et al., 2010)对照基本一致,故鉴定该化合物为花生酸。

化合物 13 白色针晶(石油醚-乙酸乙酯)。10%硫酸-乙醇显紫红色。m.p. 140 ~ 142 °C。C₂₉H₅₀O, ESI-MS *m/z*: 415.0 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 5.28 (1H, m, H-6), 3.45 (1H, m, H-3), 0.95 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, CH₃-21), 0.94 (3H, s, CH₃-19), 0.85 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, CH₃-26), 0.76 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, CH₃-29), 0.74 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, CH₃-27), 0.61 (3H, s, CH₃-18)。¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃) δ: 37.5 (C-1), 31.9 (C-2), 72.0 (C-3), 42.5 (C-4), 141.0 (C-5), 122.0 (C-6), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 50.3 (C-9), 36.7 (C-10), 21.3 (C-11), 40.0 (C-12), 42.5 (C-13), 57.0 (C-14), 24.5 (C-15), 28.5 (C-16), 56.2 (C-17), 12.1 (C-18), 19.6 (C-19), 36.4 (C-20), 19.0 (C-21),

34.2 (C-22), 26.3 (C-23), 46.1 (C-24), 29.4 (C-25), 20.0 (C-26), 19.3 (C-27), 23.3 (C-28), 12.5 (C-29)。以上数据与文献(惠昱昱等, 2021)对照基本一致,故鉴定该化合物为β-谷甾醇。

化合物 14 白色块状结晶(氯仿)。10%硫酸-乙醇显紫红色。m.p. 140 ~ 142 °C。C₂₉H₄₈O, ESI-MS *m/z*: 413.0 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, CDCl₃) δ: 5.28 (1H, m, H-6), 5.08 (1H, dd, *J* = 15.2, 8.7 Hz, H-22), 4.95 (1H, dd, *J* = 15.2, 8.8 Hz, H-23), 3.45 (1H, m, H-3), 0.95 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, CH₃-21), 0.94 (3H, s, CH₃-19), 0.85 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, CH₃-26), 0.76 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, CH₃-29), 0.74 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, CH₃-27), 0.61 (3H, s, CH₃-18)。¹³C-NMR(150 MHz, CDCl₃) δ: 37.5 (C-1), 31.9 (C-2), 72.0 (C-3), 42.5 (C-4), 141.0 (C-5), 122.0 (C-6), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 50.3 (C-9), 36.7 (C-10), 21.3 (C-11), 40.0 (C-12), 42.5 (C-13), 57.1 (C-14), 24.6 (C-15), 29.1 (C-16), 56.3 (C-17), 12.2 (C-18), 19.6 (C-19), 40.7 (C-20), 12.3 (C-21), 138.6 (C-22), 129.5 (C-23), 51.5 (C-24), 32.1 (C-25), 21.4 (C-26), 19.3 (C-27), 25.6 (C-28), 12.5 (C-29)。以上数据与文献(卢澄生等, 2020)对照基本一致,故鉴定该化合物为β-豆甾醇。

化合物 15 白色无定形粉末(丙酮)。10%硫酸-乙醇显紫色, Molish 反应阳性。m.p. 300 ~ 301 °C。C₃₅H₆₀O₆, ESI-MS *m/z*: 577.4 [M + H]⁺。¹H-NMR(600 MHz, DMSO) δ: 5.33 (1H, s, H-6), 4.44 (1H, t, *J* = 5.8 Hz, H-1'), 0.82 (9H, m, H-26~27, 29), 0.66 (3H, s, H-18)。¹³C-NMR(150 MHz, DMSO) δ: 36.9 (C-1), 29.3 (C-2), 71.5 (C-3), 38.3 (C-4), 140.5 (C-5), 121.3 (C-6), 31.4 (C-7), 31.5 (C-8), 49.6 (C-9), 36.3 (C-10), 20.6 (C-11), 39.2 (C-12), 41.9 (C-13), 56.2 (C-14), 23.9 (C-15), 27.8 (C-16), 56.4 (C-17), 11.7 (C-18), 19.1 (C-19), 35.6 (C-20), 18.7 (C-21), 33.4 (C-22), 25.4 (C-23), 45.2 (C-24), 28.7 (C-25), 19.0 (C-26), 19.7 (C-27), 22.6 (C-28), 11.8 (C-29), Glc: 100.8 (C-1'), 76.9 (C-2'), 76.8 (C-3'), 73.5 (C-4'), 70.1 (C-5'), 61.1 (C-6')。以上数据与文献(惠昱昱等, 2021)对照基本一致,故鉴定该化合物为胡萝卜苷。

表 1 化合物 4、8、9-12 对 RAW264.7 细胞生成 NO 和 IL-6 的抑制率

Table 1 Inhibition rates of compounds 4, 8, 9-12 on the production of NO and IL-6 in RAW264.7 cells

组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑制率 Inhibition rate (%)	组别 Group	浓度 Concentration ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑制率 Inhibition rate (%)
槲皮素 ^a quercetin	NO (25)	83.28		NO (50)	47.89
	IL-6 (25)	72.14		IL-6 (50)	23.15
	NO (50)	69.46	10	NO (25)	58.93
	IL-6 (50)	37.30		IL-6 (25)	46.02
4	NO (25)	35.10		NO (50)	50.31
	IL-6 (25)	33.79		IL-6 (50)	25.77
	NO (50)	35.19	11	NO (25)	60.43
	IL-6 (50)	18.24		IL-6 (25)	49.20
8	NO (25)	37.62		NO (50)	46.74
	IL-6 (25)	34.47		IL-6 (50)	21.09
	NO (50)	31.33	12	NO (25)	84.66
	IL-6 (50)	16.15		IL-6 (25)	79.60
9	NO (25)	55.37		NO (50)	72.79
	IL-6 (25)	40.18		IL-6 (50)	34.83

注: ^a 表示阳性对照。

Note: ^a indicates positive control.

3.2 体外抗炎活性

与正常组比较, LPS 模型组的 NO 和 IL-6 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的化合物 12 能显著抑制 NO 的产生, 并降低细胞上清液中 IL-6 含量 ($P < 0.01$)。化合物 12 和槲皮素对 NO 和 IL-6 含量的抑制率见表 1。由表 1 可知, 化合物 2 与阳性药的体外抗炎活性相当, 可为后续抗炎机制研究奠定基础。

4 讨论与结论

北豆根以清热解毒功效著称, 其总碱制成的片剂和注射液已广泛应用于各种炎症疾病的治疗。随着医学和科技的进步, 北豆根中的化学成分及有效成分更加明确, 药理研究逐步从有效部位深入到化学成分。本文对北豆根化学成分进行

了系统研究, 共分离鉴定出 15 个化合物, 其中化合物 4-7、9、12 为首次从防己科植物中分离得到, 化合物 1、3-11、14 为首次从蝙蝠葛属植物中分离得到。上述化合物包括苯酚类、木脂素类、菲醌类、脂肪酸类及甾醇类, 丰富了北豆根的化学多样性。为了保证抗炎活性的真实性和可靠性, 化合物必须在无毒的情况下进行细胞实验。因此我们选取了 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以内对细胞活力没有影响的化合物 (1-3、5-7、13-15) 进行体外抗炎活性研究。研究结果表明化合物 12 具有较强的抑制 RAW264.7 细胞释放 NO 和 IL-6 的作用, 提示其有良好的体外抗炎活性。但是, 本研究发现 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下化合物 12 对炎症因子抑制率更高一些, 作用效果并没有成剂量依赖关系。猜测可能是由于对给药浓度的设定存在一定的缺陷, 后期实验可以在 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度以下设置浓度梯度; 也可能由于化合物结构中存在多种官能团, 炎症相关通路及机制尤为复杂, 因此可能产生不同构效关系。本文主要对北豆根的化学成分及其抗炎活性进行了系统研究, 值得指出的是, 北豆根中的化学成分及药理活性研究集中于酚性总碱, 对非生物碱类及单一化合物的药理活性研究需更加深入的探索。因此, 本研究结果为后续寻找新的药效物质基础提供科学依据, 为全面深入研究抗炎作用机制奠定基础, 同时对进一步合理开发和利用该植物资源及拓展其临床应用范围具有一定的指导意义。

参考文献:

- CHEN Q, 2020. Study on the chemical constituents in *Hypericum sampsonii* and their anti-tumour and anti-inflammatory activity [D]. Hefei: Anhui Medical University: 27-28. [陈千, 2020. 元宝草化学成分及其抗肿瘤和抗炎活性的研究 [D]. 合肥: 安徽医科大学: 27-28.]
- HE K, FAN LL, WU TT, et al., 2021. Chemical constituents from *Pyrrosia shearerii* [J]. *Guizhou*, 41 (11): 1862-1867. [何康, 范琳琳, 伍天苔, 等, 2021. 庐山石韦的化学成分研究 [J]. *广西植物*, 41(11): 1862-1867.]
- HUI YY, CHEN D, YANG XF, 2021. Chemical constituents from the roots of *Piper longum* and their antitumor activities [J]. *Chin Trad Pat Med*, 43(1): 98-102. [惠昱昱, 陈镛,

- 杨秀芳, 2021. 萆薢根化学成分及其抗肿瘤活性 [J]. 中成药, 43(1): 98-102.]
- LI FS, YAN DL, LIU RR, et al., 2010. Chemical constituents of *Boswellia carterii* (Frankincense) [J]. Chin J Nat Med, 115(1): 25-27.
- LI XZ, YAN YM, CHENG YX, 2017. Compounds from *Clerodendranthus spicatus* [J]. Nat Prod Res Dev, 29(2): 183-189. [李小珍, 晏永明, 程永现, 2017. 肾茶化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 29(2): 183-189.]
- LU CS, ZHANG Q, ZENG J, et al., 2020. Chemical constituents of Zhuang medicine *Whitfordiodendron filipes* Caculis [J]. Chin Med Mat, 43(7): 1635-1638. [卢澄生, 张强, 曾洁, 等, 2020. 壮药黄皮血藤化学成分研究 [J]. 中药材, 43(7): 1635-1638.]
- MO QH, ZHOU XL, ZHOU Y, et al., 2020. Chemical constituents from the leaves of *Rhodomyrtus tomentosa* [J]. Chin Med Mat, 43(3): 587-590. [莫青胡, 周先丽, 周云, 等, 2020. 桃金娘叶的化学成分研究 [J]. 中药材, 43(3): 587-590.]
- SHAO J, SHI CF, WEI JX, 2019. Chemical constituents from rhizome of *Menispermum dauricum* and their anti-hypoxic activities [J]. Chin J Chin Mat Med, 44(4): 723-729. [邵佳, 师超峰, 魏金霞, 等, 2019. 北豆根中化学成分及其抗缺氧活性研究 [J]. 中国中药杂志, 44(4): 723-729.]
- SU H, WANG XG, LIU SQ, 2015. Research progress on the dosage from the extract of *Menispermum dauricum* [J]. J Hebei Trad Chin Med, 30(2): 61-64. [苏慧, 王兴刚, 刘霜琪, 2015. 北豆根提取物剂型的研究进展 [J]. 河北中医药学报, 30(2): 61-64.]
- SUN R, WANG C, 2009. Research development on toxicity of *Rhizoma menispermum* [J]. Chin J Pharmacovigil, 6(9): 546-549. [孙蓉, 王晨, 2009. 北豆根毒性研究进展 [J]. 中国药物警戒, 6(9): 546-549.]
- SUN YJ, ZHOU W, CHEN H, et al., 2012. Phenols from roots and rhizomes of *Sinopodophyllum emodi* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 43(2): 226-229. [孙彦君, 周巍, 陈虹, 等, 2012. 桃儿七中酚类成分研究 [J]. 中草药, 43(2): 226-229.]
- TI HH, XU LX, CHEN ZH, 2015. Megastigmane sesquiterpenes and phenylpropanols from *Epimedium pseudowushanense* [J]. J Trop Subtrop Bot, 23(1): 99-102. [迺慧慧, 徐良雄, 陈志辉, 2015. 拟巫山淫羊藿的 megastigmane 糖苷和苯丙醇类成分 [J]. 热带亚热带植物学报, 23(1): 99-102.]
- YU YY, SHAO J, WEI JX, et al., 2019a. Research progress on alkaloids and their pharmacological effects of the rhizome of *Menispermum dauricum* [J]. Chin Med Mat, 42(10): 2453-2461. [喻瑛瑛, 邵佳, 魏金霞, 等, 2019a. 北豆根中生物碱类成分及其药理作用研究进展 [J]. 中药材, 42(10): 2453-2461.]
- YU YY, SHAO J, CHEN F, et al., 2019b. Study on oxoisoporphine alkaloids from rhizome of *Menispermum dauricum* and their anti-myocardial ischemia activities [J]. J Logist Univ PAP (Med Sci), 28(11): 1-6. [喻瑛瑛, 邵佳, 陈飞, 等, 2019b. 北豆根中氧化异阿朴啡型生物碱类成分及其抗心肌缺血活性研究 [J]. 武警后勤学院学报(医学版), 28(11): 1-6.]
- ZHANG CH, XU QL, ZENG L, et al., 2020. Chemical constituents from leaves of *Dendrobium officinale* [J]. For Environ Sci, 36(3): 30-34. [张春花, 徐巧林, 曾雷, 等, 2020. 铁皮石斛叶的化学成分研究 [J]. 林业与环境科学, 36(3): 30-34.]
- ZHANG JY, ZENG LF, JIN YL, et al., 2020. Study on the chemical constituents of the *n*-butanol fractions of the stems and branches of *Altingia chingii* Metc. [J]. Technol Innovat Appl, 4(12): 30-31. [张纪越, 曾令峰, 靳永亮, 等, 2020. 金缕半枫荷茎枝正丁醇部位的化学成分研究 [J]. 科技创新与应用, 4(12): 30-31.]
- ZHANG PZ, SU MS, WANG YQ, et al., 2016. Chemical constituents from *Gymnotheca involucrata* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 47(19): 3366-3369. [张普照, 苏明声, 王雅琪, 等, 2016. 白苞裸蒴化学成分研究 [J]. 中草药, 47(19): 3366-3369.]
- ZHANG ZJ, ZHANG XQ, YE WC, et al., 2004. A new 1,4-phenanthraquinone from *Menispermum dauricum* [J]. Nat Prod Res, 18(4): 301-304.

(责任编辑 邓斯丽 李莉)