

菊参化学成分及其药理活性探析*

崔红梅**, 罗 恒, 杨安东, 黎万寿

(四川省中医药科学院 成都 610041)

摘 要:目的:研究菊参的化学成分并通过药理实验寻找活性成分,为进一步开发利用该药用资源提供依据。方法:在药理活性筛选结果指导下,采用硅胶柱色谱、大孔树脂柱色谱、高效液相色谱等方法对其化学成分进行分离纯化,应用 UV、IR、MS、NMR 等分析技术对化合物的结构进行鉴定。结果:菊参正丁醇萃取部分能延长小鼠常压缺氧状态下的存活时间($P < 0.05$)。并从中分离得到了 2 个生物碱类化合物——1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-甲酸(I)和腺嘌呤(II)。结论:化合物 I 和 II 均为首次从菊参植物中分离获得。

关键词: 蒜叶婆罗门参 1,2,3,4-四氢- β -咔啉-3-甲酸 腺嘌呤 分离 结构鉴定 药理活性

doi: 10.11842/wst.2014.06.040 中图分类号: R284, R285.5 文献标识码: A

菊参收载于《四川省中药材标准》,为菊科婆罗门参属植物蒜叶婆罗门参 *Tragopogon porrifolius* L.栽培种的根,分布于新疆,在四川省阿坝州也有栽培^[1],用于身体虚弱,四肢无力,失眠多梦,精神萎靡,食欲不振,胸闷气紧,喘促咳嗽等症。菊参具有“类人参样”作用,而无人参样副作用,有良好的开发利用价值。药理研究表明其具有抗疲劳,耐缺氧,镇静催眠,增强记忆,抗炎止痛,止咳祛痰等功效^[2,3],但其化学成分研究较少。前期实验结果显示,本品含有皂苷、生物碱、多糖、香豆素、酚等成分。现有文献报道仅研究了石油醚可溶或氯仿、乙酸乙酯可溶部分等脂溶性成分,对极性较强的皂苷、生物碱、多糖等未涉及,本研究结合药效实验对菊参极性成分进行分析,以期发现其活性成分,明确药用价值。

1 仪器与材料

Advance Bruker 600 M 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司),日本岛津 FTIR-8300 红外分析仪(日本岛津

公司),Agilent 1260 infinity-6520 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS 高分辨质谱仪(美国安捷伦公司),Agilent 1200 型高效液相色谱仪系统(美国安捷伦公司),Grace 3300 蒸发光散射检测器(美国奥泰科技有限公司),Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。乙腈为色谱纯(Fisher 公司),氯仿、甲醇、乙醚、正丁醇、乙醇等所用试剂为分析纯(成都长联化工试剂厂),工艺用水为蒸馏水,D101 大孔树脂(天津南开大学树脂有限公司),柱层析硅胶(200~300 目,青岛海洋化工)。腺嘌呤(含量测定用,批号:110886-201102,中国食品药品检定研究院)

菊参药材为四川省阿坝州栽培品种,由四川省中医药科学院资源与种植研究所周毅副研究员鉴定为蒜叶婆罗门参 *Tragopogon porrifolius* L.栽培种的根。

2 提取和分离

取菊参干燥根 10 kg,切碎,70% 甲醇渗漉提取,至渗漉液色浅,共使用溶剂 130 L,合并醇提液后,在 60℃ 下减压回收溶剂,得稠浸膏。加适量水稀

收稿日期:2013-12-04

修回日期:2014-06-18

* 四川省科技厅省级科研院所基本科研业务专项(A-2009N-17) 菊参化学成分研究,负责人 崔红梅。

** 通讯作者:崔红梅,助理研究员,主要研究方向:中药化学与中药分析。

释,用乙醚萃取进行脱脂处理。水溶液部分在 40℃ 下减压除去水中残留的乙醚后,用水饱和的正丁醇萃取。正丁醇部分减压干燥,得干浸膏 260 g。水溶液挥去正丁醇后加水稀释上 D101 大孔吸附树脂柱,先用水洗除去糖和无机盐等杂质,再用 75%乙醇洗脱,收集洗脱液,减压干燥,得到洗脱物 600 g。

HPLC 检测各部分组分并与总提物组分进行比较,发现组分主要集中在正丁醇萃取部分。色谱条件:Gemini C₁₈ 色谱柱(110 Å,4.60 mm×250 mm,5 μm);柱温 30℃;检测波长 203 nm;流动相为乙腈(A)-水(B)梯度洗脱(0~10 min,5%~15%A;10~40 min,15%A;40~50 min,15%~21%A;50~60 min,21%A;60~90 min,21%~50%A;90~110 min,50%~100%A);流速:1.0 mL·min⁻¹。

取正丁醇萃取部分 80 g,以 6 000 mL 温水分 3 次超声溶解,上 D101 大孔吸附树脂柱分离纯化,依次用水,10%,30%,50%,75%乙醇洗脱,HPLC 检测各部分组分,以 30%乙醇洗脱部分组分含量相对较高,进一步进行硅胶柱层析分离,以氯仿-甲醇系统洗脱,得到一白色无定形粉末状化合物 I(82 mg),甲醇重结晶,经 HPLC-DAD 检测分析,纯度达 98% 以上。D101 树脂柱处理的水流出液和水洗液合并,正丁醇萃取,回收正丁醇后经制备液相色谱甲醇-水(4:96)分离得化合物 II(8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I:mp 287~290℃。茚三酮试液检测呈黄色,可能有类似于脯氨酸的 α-亚氨基酸结构;与 Ehrlich 试剂反应显黄色,可能存在吡啶基结构。365 nm 下检视有黄色荧光,说明有比较长的共轭体系。与三氯化铝试液反应不显色,说明非黄酮类成分。

IR cm⁻¹:3 344.3(N-H),1 635.5(-COOH),1 448.4(芳环),1 402.2,1 218.9,1 147.6,1 074.3,732.9。UV nm:225,275,290,表明共轭体系的存在。高分辨质谱显示分子离子峰 m/z 217.096 3 [M+H]⁺,分子量 216.089 1,其碎片离子峰 m/z 144.080 2 [M+H]⁺,分子量 143.072 9,测得该化合物分子式为 C₁₂H₁₂N₂O₂。化合物的 ¹H-NMR(600 MHz,DMSO)中,显示有 4 个芳香氢信号 δ:7.50(1H,d,H-5),7.38(1H,d,H-8),7.12(1H,t,H-6),7.03(1H,t,H-7),在高磁场区域存在 5 个氢信号 δ:4.48(1H,d,H-3),4.42(2H,s,H-1),3.31(1H,d,H_a-4),3.05(1H,

t,H_c-4)。有 3 个活泼氢信号 δ:9.87(2H,s,N-H),11.12(1H,s,-COOH)。¹³C-NMR 显示了 12 个碳信号峰 δ:170.66(-COOH),136.80(C-8a),126.78(C-4b),126.20(C-9a),122.28(C-6),119.58(C-7),118.39(C-5),111.88(C-8),105.14(C-4a),54.56(C-3),40.76(C-1),22.45(C-4)。数据与文献报道基本一致^[4-6],鉴定为 1,2,3,4-四氢-β-吡啶-3-甲酸。结构式见图 1。

化合物 II:白色粉末,UV nm:210,260。高分辨质谱显示分子离子峰 m/z 136.061 8 [M+H]⁺,分子量 135.0547,测得该化合物分子式为 C₅H₅N₅O。¹H-NMR(600 MHz,DMSO)δ:8.24(1H,s,H-2),8.18(1H,s,H-8),7.80,7.76(2H,s,NH₂-6),10.94(1H,s,H-7)。¹³C-NMR 显示了 5 个碳信号峰 δ:153.13(C-2),150.41(C-4),118.96(C-5),156.35(C-6),139.50(C-8)。经与标准品数据比较,鉴定为腺嘌呤。

4 急性毒性和常压耐缺氧实验

4.1 材料

菊参正丁醇萃取部分,西洋参含片(常州格蓝生物技术有限公司生产,批号:20100621)。KM 小鼠 84 只,雌雄各半,体质量 18~22 g,由四川省中医药科学院实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(川)2008-19。

4.2 方法与结果

4.2.1 最大耐受量测定

经预试,给予菊参正丁醇萃取部分最大浓度,最大给药量后无动物死亡及其它中毒情况。故按照最大耐受量实验方法测定了该药的最大耐受量^[7]。灌胃小鼠 20 只,雌雄各半,给药量 0.4 mL/10 g(相

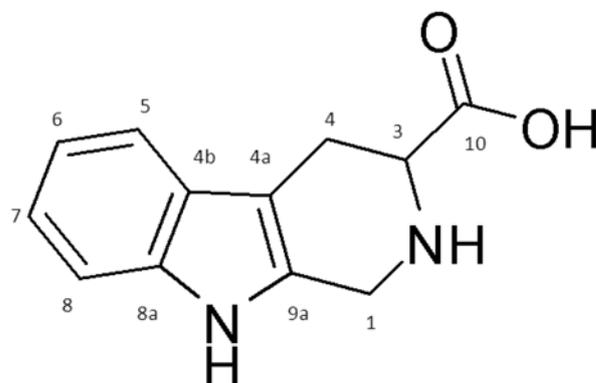


图 1 化合物 I 的化学结构式

当于 3.27 g 原生药/10 g 体质量), 每天给药 1 次, 给药后立即观察小鼠的以下情况: 神经系统: ①行为及反应(包括不正常叫声、烦躁、不安等); ②运动(包括肌肉抽搐、僵硬、强迫运动等); ③瞳孔及分泌物(瞳孔有无缩小或放大、流泪等)。呼吸及心血管系统: 呼吸急促或过缓、鼻分泌、触心前区心率快慢等。消化系统: 腹部胀气或收缩、大便坚硬或湿等。泌尿生殖系统: 阴唇、乳腺肿胀、会阴部肮脏。皮肤和毛: 颜色、完整性、有否充血、发疹等。其它: 眼睑下垂、眼球突出、震颤等。给药后, 连续观察 9 天, 小鼠未出现死亡情况。日常活动正常, 未出现明显的中毒现象。处死后解剖观察其心、肝、脾、肺、肾等, 均无特殊改变。表明菊参正丁醇萃取部分对小鼠无毒副作用。根据菊参临床用药剂量计算最大耐受量倍数:

$$\begin{aligned} & [\text{每只小鼠的耐受量}/\text{小鼠平均体质量}(20 \text{ g})] \times \\ & [\text{成人平均体质量}(60 \text{ kg})/\text{成人每日用量}](\text{倍}) \\ & = (6.54/20 \text{ g}) \times (60 \text{ 000 g}/10 \text{ g}) \\ & = 1 \text{ 962}(\text{倍}) \end{aligned}$$

4.2.2 常压耐缺氧实验

小鼠按体质量随机分为 5 组, 分别为菊参正丁醇萃取部分小、中、大 3 个剂量组(分别为 0.98、1.96、3.92 g·kg⁻¹), 空白对照组, 西洋参含片对照组(0.45 g·kg⁻¹), 各受试组分别灌服相应药物, 连续 8 天。于给药后第 8 天, 每组小鼠在给药后 30 min 放入有 10 g 钠石灰的 250 mL 广口瓶中, 立即盖上瓶盖记时, 直至小鼠停止呼吸。记录小鼠在广口瓶中的生存时间^[8]。结果见表 1。

与空白对照组相比, 菊参各剂量组的小鼠在缺氧条件下存活的时间更长, 且随着剂量增大, 小鼠的存活时间延长。可见菊参正丁醇萃取部分可延长缺氧小鼠的存活时间, 且呈现一定的效量关系, 说

表 1 菊参提取物对小鼠常压耐缺氧作用的影响($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	存活时间/min
空白对照组	-	30.98±6.27
西洋参含片对照组	0.45	39.69±3.87**
菊参小剂量	0.98	28.22±4.67
菊参中剂量	1.96	33.31±3.25
菊参大剂量	3.92	36.20±4.07*

注: 与空白对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

明菊参提取物具有一定的抗缺氧功效。

5 结论

本研究最终分离鉴定了 2 个生物碱类成分: 1, 2, 3, 4-四氢- β -咔啉-3-甲酸(I)和腺嘌呤(II), 为菊参中此类成分的首次报道。同时比较分析不同产地菊参的 HPLC 指纹图谱, 发现化合物组分基本一致, 其它组分含量也大致相同, 但化合物 I 的含量差异显著。说明化合物 I 可以反映不同产地菊参的质量差异, 其文献报道的生物活性与菊参的药理活性有相关性, 一定程度上揭示了菊参药理活性的物质基础。

四氢咔啉是许多具有重要生理活性的吲哚生物碱的关键结构单元, 也是一些抗肿瘤药物和活性化合物的必需结构^[9], 近几年学者对咔啉类生物碱的合成、抗肿瘤、抗血栓活性等展开了大量的研究^[10-15]。因化学成分不明, 菊参一直仅作为人参的替代品使用, 但本研究结果显示菊参除具有人参的抗疲劳耐缺氧作用且毒副作用非常小的优势外, 作为咔啉生物碱的天然药物来源尚有更多的使用潜力, 有待进一步开发利用。

致谢: 感谢龙祥儒老师提供药材资源。

参考文献

- 1 四川省卫生厅. 四川中药材标准(1987年版增补本). 成都: 成都科技大学出版社, 1987: 91~93.
- 2 龙祥儒, 田江明. 蒜叶婆罗门参抗疲劳和耐缺氧作用的研究. 中国中药杂志, 1990, 15(12): 37~39.
- 3 谢居乐, 陈菊芳. 对菊参抗疲劳耐缺氧作用的研究. 中国药房, 1995, 6(2): 10~11.
- 4 赵树明, 陆亚男, 田晓清, 等. 大洋纵列海鞘中的嘌呤和咔啉生物碱成分研究. 中国中药杂志, 2013, 38(7): 1018~1020.
- 5 Okuda T, Yoshida T, Shiota N, et al. L-3-carboxy-1, 2, 3, 4-tetrahydro- β -carboline, a new amino acid from seeds of *Aleurites fordii*. *Phytochemistry*, 1975(14): 2304.
- 6 杨宪斌, 江添益, 彭师奇, 等. 四氢- β -咔啉类化合物的 ¹³C-NMR 研究. 波谱学杂志, 1992, 9(2): 183~188.
- 7 徐叔云. 药理实验方法学(第 2 版). 北京: 人民卫生出版社, 1993: 118~119.
- 8 陈奇. 中药药理研究方法学(第 1 版). 北京: 人民卫生出版社, 1993: 714.
- 9 阮秀琴, 尤启冬, 杨蕾, 等. β -四氢咔啉衍生物的合成和生物活性. 药学学报, 2008, 43(8): 828~832.
- 10 薛宝玉, 江蔚新, 杨哲, 等. 3S-1, 2, 3, 4-四氢- β -咔啉-3-羧酸的结构修饰和抗血栓活性研究. 首都医科大学学报, 2005, 26(1): 38.

- 11 樊玉祥,何文婷,李沫函,等.三种不同方法检测 β -咔啉类生物碱所致的人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡.实验与检验医学,2013,31(6):541~543.
- 12 张燕,范文玺,徐艺玫,等. β -咔啉类衍生物对 BALB/c 裸小鼠肝癌皮下移植瘤生长的影响.实验动物与比较医学,2013,33(4):290~295.
- 13 阮秀琴,陈明,吴梧桐,等.四氢咔啉类纺锤体驱动蛋白抑制剂的合成和抗肿瘤活性研究.药学学报,2013,48(7):1119~1123.
- 14 郭亮,范文玺,陈雪梅,等. β -咔啉衍生物的合成和初步抗肿瘤活性研究.有机化学,2013,33(2):332~338.
- 15 王媛,将勇军,张美青,等. α -咔啉类 GSK-3 β 抑制剂的合成、活性评价和分子对接研究.化学学报,2012,70(18):1974~1978.

Activity-based Studies on Chemical Constituents in *Tragopogon Porrifolius* L.

Cui Hongmei, Luo Heng, Yang Andong, Li Wanshou

(Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract: This article was aimed to study the chemical constituents in *Tragopogon porrifolius* L. and their activities by pharmacological experiment in order to provide evidences in the further development of the usage of this medical resource. Under the guidance of pharmacological activities screening results, compounds were isolated by repeated silica gel, macroporous resin column chromatography and HPLC. Their structures were identified by means of UV, IR, MS, NMR and other chemical evidences. The results showed that *T. porrifolius* L. (i.e., n-butanol extraction part) can increase survival time of mice in the oxygen-lacking state ($P < 0.05$). Two compounds of biological alkaloids, which were identified as 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid (I) and adenine (II), were isolated. It was concluded that compound I and II were obtained from *T. porrifolius* L. for the first time.

Keywords: *Tragopogon porrifolius* L., 1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid, adenine, isolation, structure identification, pharmacological activity

(责任编辑:李沙沙 张志华,责任译审:汪晶)