

岩黄连生物碱类成分及其抗氧化活性研究

何志超¹, 王冬梅², 李国成¹, 伍俊妍^{1*}

1. 中山大学孙逸仙纪念医院 药学部, 广东 广州 510120

2. 中山大学药学院, 广东 广州 510080

摘要: 目的 研究岩黄连 *Corydalis saxicola* 的生物碱类成分及其抗氧化活性。方法 应用多种柱色谱法进行分离纯化, 根据化合物的波谱分析进行结构鉴定, 采用 DPPH 自由基清除法进行抗氧化活性研究。结果 从岩黄连全草 70%乙醇提取物中共分离得到 16 个化合物, 分别鉴定为卡维汀 (1)、刺罂粟碱 (2)、氢化小檗碱 (3)、四氢巴马汀 (4)、碎叶紫堇碱 (5)、斯氏紫堇碱 (6)、原阿片碱 (7)、去氢碎叶紫堇碱 (8)、脱氢异阿朴卡维汀 (9)、小檗碱 (10)、去氢分离木瓣树胺 (11)、白屈菜红碱 (12)、脱氢卡维汀 (13)、黄堇碱 (14)、异紫堇定碱 (15)、深山黄堇碱 (16)。体外抗氧化活性结果显示岩黄连生物碱对 DPPH 自由基清除作用较强, 抗氧化活性显现浓度依赖性。结论 化合物 3、5、8、11、16 均为首次从该植物中分离得到。化合物 5、16 抗氧化活性高, 可能是该植物主要的抗炎活性成分。

关键词: 岩黄连; 生物碱; 氢化小檗碱; 碎叶紫堇碱; 深山黄堇碱; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)11-1526-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.11.005

Study on alkaloids from *Corydalis saxicola* and their anti-oxidative activities

HE Zhi-chao¹, WANG Dong-mei², LI Guo-cheng¹, WU Jun-yan¹

1. Department of Pharmacy, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Abstract: Objective To study the alkaloids from *Corydalis saxicola* and their anti-oxidative activities. **Methods** The alkaloids were separated and purified by various column chromatography and identified according to their spectral analyses. The anti-oxidation activities were investigated on DPPH radical scavenging assay. **Results** Sixteen compounds were obtained and identified as cavidine (1), stylophine (2), canadine (3), tetrahydropalmatine (4), cheilanthifoline (5), scoulerine (6), protopine (7), dehydrocheilanthifoline (8), dehydroisoapocavidine (9), berberine (10), dehydrodiscretamine (11), chelerythrine (12), dehydrocavidine (13), corypalline (14), isocorydine (15), and pallidine (16). The alkaloids from *C. saxicola* were measured by the model of scavenging the stable DPPH radical, which showed a concentration dependent scavenging effect. **Conclusion** Compounds 3, 5, 8, 11, and 16 are isolated from *C. saxicola* for the first time. Compounds 5 and 16 show the strong anti-oxidative activities.

Key words: *Corydalis saxicola* Bunting; alkaloids; canadine; cheilanthifoline; pallidine; anti-oxidative activities

岩黄连又名岩连, 系罂粟科 (Papaveraceae) 紫堇属 *Corydalis* DC. 多年生草本植物岩黄连 *Corydalis saxicola* Bunting 的全草, 被收载于《广西中药材标准》^[1], 据《广西植物志》、《贵州本草》、《中药大辞典》、《新华本草纲要》等所记载: 本品性苦、寒, 具有清热、消肿、止血、止痛、利湿、拔毒等作用, 民间用于口舌糜烂、目赤、急性腹痛、肝炎、肝硬化、痢疾、痔疮出血、晚期癌痛、急性

黄疸型肝炎等症^[2]。近代药理研究表明岩黄连能够用于流行性热毒病、瘟疫、毒痢、痛肿胀、急慢性肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎、肝硬化、肝脓疡、肝腹水、胆囊炎、肝癌等症^[3]。根据文献报道^[4-6], 小檗碱能提高脂蛋白酶的活性, 促进 LDL 受体的表达, 通过腺苷酸酶 (AMP) 活性抑制脂质的合成以及减少过氧化物酶体增殖活化受体 (PPAR γ) 的表达, 从而表现出一定的抗氧化活性。

收稿日期: 2014-02-13

基金项目: 广东省中医药科研项目 (20111166)

作者简介: 何志超 (1984—), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: zhichaohe@163.com

*通信作者 伍俊妍 (1974—), 女, 副主任药师, 研究方向为临床药理学。Tel: (020)81332451 E-mail: junewu@tom.com

本课题前期研究表明岩黄连 70%乙醇提取物以及各萃取层均显示出良好的抗氧化活性,但国内外未见相关的岩黄连抗氧化活性实验报道,因此,本研究对岩黄连中单体成分进行系统的分离纯化研究,从岩黄连全草 70%乙醇提取物中得到 16 个化合物,分别鉴定为卡维汀(cavidine, **1**)、刺罂粟碱(stylophine, **2**)、氢化小檗碱(canadine, **3**)、四氢巴马汀(tetrahydropalmatine, **4**)、碎叶紫堇碱(cheilanthifoline, **5**)、斯氏紫堇碱(scoulerine, **6**)、原阿片碱(protopine, **7**)、去氢碎叶紫堇碱(dehydrocheilanthifoline, **8**)、脱氢异阿朴卡维汀(dehydroisoapocavidine, **9**)、小檗碱(berberine, **10**)、去氢分离木瓣树胺(dehydrodiscretamine, **11**)、白屈菜红碱(chelerythrine, **12**)、脱氢卡维汀(dehydrocavidine, **13**)、黄堇碱(corypalline, **14**)、异紫堇定碱(isocorydine, **15**)、深山黄堇碱(pallidine, **16**)。其中化合物 **3**、**5**、**8**、**11**、**16** 为首次从该植物中分离得到。采用 DPPH 清除法进行抗氧化活性筛查,为岩黄连作为天然抗氧化剂的开发提供实验依据。

1 仪器与材料

X—4 熔点仪(北京泰克仪器有限公司), Brucker EQUINOX55 傅里叶变换红外光谱-红外显微联用仪(Bruker 公司), Bruker Avance AV 400 超导核磁共振谱仪(Bruker 公司), Bruker microOTOF-Q 质谱仪(Bruker 公司), WZZ—2S 自动旋光仪(上海精密科学仪器有限公司)。硅胶 H(200~300 目, Merck); 大孔树脂 Diaion HP-20(Mitsubishi Chemical Ltd., 日本); MCI gel CHP-20P(75~150 μm , Mitsubishi Chemical Ltd., 日本); 反相硅胶 Chromatorex RP₁₈(100~200 目, Fuji Silysia Chemical Ltd., 日本); 阳离子交换树脂 Amberlite IR-120(plus)(Sigma 公司); TLC 硅胶预制板: Silica gel GF₂₅₄(Merck 公司); 所用其他试剂均为分析纯。

岩黄连全草于 2009 年 5 月采自广西壮族自治区东兰县 GAP 种植基地,人工栽培品种,阴干后备用。经中山大学药学院生药学实验室杨得坡教授鉴定为罂粟科紫堇属植物岩黄连 *Corydalis saxicola* Bunting, 标本保存于中山大学药学院生药学实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

岩黄连的干燥全草 3 kg, 粉碎(过 40 目筛), 用 8 倍量的 70%乙醇超声提取 3 次, 每次提取 30 min, 减压回收溶剂后, 将所得的流浸膏均匀分散

于适量的水溶液中, 分别用等体积的石油醚、醋酸乙酯、水饱和的正丁醇萃取, 得到石油醚萃取部分(8.34 g)、醋酸乙酯萃取部分(10.21 g)、正丁醇萃取部分(80.94 g)和水层留余部分(200.69 g)。

石油醚萃取部分经硅胶柱色谱(环己烷-醋酸乙酯 100:0→92:8), 得到化合物 **1**(41 mg)和 **2**(32 mg)。醋酸乙酯萃取部分经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 100:0→95:5), 得到 3 个馏份, 再分别经(环己烷-醋酸乙酯)得到化合物 **3**(15 mg)、**4**(17 mg)、**5**(8 mg)。正丁醇萃取部分经 ODS 反相硅胶柱色谱(甲醇-水)以及硅胶柱色谱(氯仿-甲醇)预处理后, 再经硅胶柱色谱(正己烷-醋酸乙酯-乙醇)以及重结晶手段, 得到化合物 **6**(26 mg)、**7**(11 mg)、**8**(21 mg)、**9**(13 mg)、**10**(18 mg)、**11**(14 mg)和 **12**(5 mg)。水层留余部分置于 0~4 °C 冰箱内放置, 析出黄色粉末, 滤出粉末经过制备高效液相色谱纯化, 得到化合物 **13**(71 mg)。水溶液经 Diaion HP-20(甲醇-水)、以及反复硅胶柱色谱后, 得到化合物 **14**(7 mg)、**15**(11 mg)、**16**(7 mg)。

2.2 抗氧化活性测定

精密称取 DPPH 3.94 mg 置于 50 mL 棕色量瓶, 用 95%乙醇溶解并稀释至刻度, 配制浓度为 200 $\mu\text{mol/mL}$ 的 DPPH 乙醇溶液, 避光保存。精密量取样品试液 1 mL、95%乙醇 2 mL、200 $\mu\text{mol/mL}$ DPPH 试液 2 mL 作为实验组, 另取样品试液 1 mL、95%乙醇 4 mL 作为空白组, 95%乙醇 3 mL、DPPH 试液 2.0 mL 作为对照组。各组溶液分别于试管内混匀, 室温条件下避光反应 30 min, 在 517 nm 处测定其吸光度(A)值。按照下式计算各待测物的自由基清除率。

$$\text{自由基清除率} = 1 - (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / A_{\text{对照}}$$

2.3 统计分析

数据采用 SPSS 15.0 软件进行统计分析, IC_{50} 采用 Origin 7.5 软件进行计算。

3 结果与讨论

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色无定形粉末, mp 189~190 °C, $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_4$, ESI-MS m/z : 354 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 0.94 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, 13-CH₃), 2.55 (1H, dd, $J = 3.6, 15.0$ Hz, H-6 α), 2.61 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-5 α), 3.10 (1H, m, H-5 β), 3.15 (1H, m, H-6 β), 3.24 (1H, q, $J = 3.0, 6.6$ Hz, H-13), 3.50 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-8 α), 3.51 (1H, d, $J = 15.0$

Hz, H-14), 3.86 (3H, s, 2-OCH₃), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 4.07 (1H, dd, $J = 6.0, 15.0$ Hz, H-8 β), 5.92 (2H, dd, $J = 1.5, 11.0$ Hz, -OCH₂O-), 6.57 (1H, s, H-4), 6.64 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11), 6.67 (1H, s, H-1), 6.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 17.8 (13-CH₃), 28.9 (C-5), 38.2 (C-13), 51.0 (C-6), 52.9 (C-8), 55.2 (2-OCH₃), 55.7 (3-OCH₃), 62.6 (C-14), 100.8 (-OCH₂O-), 106.3 (C-11), 108.1 (C-1), 109.2 (C-4), 110.5 (C-8a), 116.4 (C-12), 120.7 (C-4a), 127.8 (C-14a), 135.3 (C-12a), 143.2 (C-10), 144.0 (C-9), 146.9 (C-2), 147.5 (C-3)。上述数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **1** 为卡维汀。

化合物 **2**: 黄色无定形粉末, mp 194~195 °C, C₁₉H₁₇NO₄, ESI-MS m/z : 324 [M+H]⁺。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 2.67 (1H, dd, $J = 3.0, 10.0$ Hz, H-6 α), 2.71 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-5 α), 2.88 (1H, dd, $J = 4.5, 11.4$ Hz, H-13 α), 3.18 (1H, m, H-5 β), 3.22 (1H, m, H-6 β), 3.27 (1H, dd, $J = 4.0, 15.9$ Hz, H-13 β), 3.60 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-8), 3.64 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-14), 4.13 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-8a), 5.95 (2H, s, 9, 10-OCH₂O-), 6.00 (2H, s, 2, 3-OCH₂O-), 6.62 (1H, s, H-4), 6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11), 6.72 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12), 6.76 (1H, s, H-1); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 30.9 (C-5), 37.6 (C-13), 52.3 (C-6), 54.0 (C-8), 60.9 (C-14), 101.7 (2, 3-OCH₂O-), 102.3 (9, 10-OCH₂O-), 106.5 (C-1), 107.8 (C-11), 109.4 (C-4), 117.7 (C-8a), 121.9 (C-12), 128.7 (C-4a), 129.5 (12a), 131.7 (14a), 144.4 (C-10), 146.0 (C-2), 147.2 (C-3), 147.5 (C-9)。上述数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **2** 为刺罂粟碱。

化合物 **3**: 黄色无定形粉末, mp 165~166 °C, C₂₀H₂₁NO₄, ESI-MS m/z : 340 [M+H]⁺。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 2.64 (1H, m, H-5 α), 2.66 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-6 α), 2.83 (1H, dd, $J = 11.4, 15.6$ Hz, H-13 α), 3.12 (1H, m, H-5 β), 3.18 (1H, m, H-13 β), 3.23 (1H, dd, $J = 3.6, 15.9$ Hz, H-6 β), 3.55 (1H, d, $J = 15.1$ Hz, H-8 α), 3.55 (1H, d, $J = 15.1$ Hz, H-14), 3.85 (6H, s, 9, 10-OCH₃), 4.24 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8 β), 5.91 (2H, s, -OCH₂O-), 6.58 (1H, s, H-4), 6.72 (1H, s, H-1), 6.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11), 6.85 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 29.8 (C-5), 36.7 (C-13), 51.7 (C-6), 54.2 (C-8), 56.2 (10-OCH₃), 59.9 (9-OCH₃), 60.5 (C-14), 101.0 (2,

3-OCH₂O-), 105.7 (C-1), 108.6 (C-4), 111.3 (C-11), 124.1 (C-12), 127.8 (C-12a), 127.9 (C-4a), 128.6 (C-8a), 130.9 (C-14a), 145.3 (C-9), 146.1 (C-3), 146.3 (C-2), 150.5 (C-10)。上述数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **3** 为氢化小檗碱。

化合物 **4**: 黄色无定形粉末, mp 139~140 °C, C₂₁H₂₅NO₄, ESI-MS m/z : 356 [M+H]⁺。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 2.63 (1H, m, H-6 α), 2.67 (1H, m, H-5 α), 2.84 (1H, dd, $J = 4.2, 11.4$ Hz, H-13 α), 3.11 (1H, dd, $J = 6.0, 16.5$ Hz, H-5 β), 3.18 (1H, dd, $J = 5.4, 9.6$ Hz, H-6 β), 3.27 (1H, dd, $J = 3.6, 15.9$ Hz, H-13 β), 3.54 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-8 α), 3.54 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-14), 3.84 (3H, s, 9-OCH₃), 3.85 (3H, s, 2-OCH₃), 3.86 (3H, s, 10-OCH₃), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 4.24 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8 β), 6.61 (1H, s, H-4), 6.72 (1H, s, H-1), 6.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11), 6.87 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 29.4 (C-5), 36.6 (C-13), 51.8 (C-6), 54.3 (C-8), 56.2 (2-OCH₃), 56.2 (9-OCH₃), 56.4 (3-OCH₃), 59.6 (10-OCH₃), 60.5 (C-14), 108.9 (C-1), 111.3 (C-11), 111.7 (C-4), 124.0 (C-12), 127.0 (C-4a), 128.0 (C-8a), 128.8 (C-12a), 129.9 (C-14a), 145.3 (C-9), 147.6 (C-2), 147.7 (C-3), 150.4 (C-10)。上述数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为四氢巴马汀。

化合物 **5**: 黄色无定形粉末, mp 176~178 °C, C₁₉H₁₉NO₄, ESI-MS m/z : 326 [M+H]⁺。¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 2.65 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-6 α), 2.69 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-5 α), 2.81 (1H, dd, $J = 4.2, 11.7$ Hz, H-13 α), 3.15 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-5 β), 3.19 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-6 β), 3.26 (1H, dd, $J = 3.3, 15.9$ Hz, H-13 β), 3.54 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-8 α), 3.54 (1H, m, H-14), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 4.10 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-8 β), 5.94 (2H, dd, $J = 10.2, 10.2$ Hz, -OCH₂O-), 6.59 (1H, s, H-4), 6.63 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11), 6.68 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12), 6.81 (1H, s, H-1); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ : 29.5 (C-5), 36.6 (C-13), 51.8 (C-6), 53.3 (C-8), 56.2 (3-OCH₃), 59.7 (C-14), 101.2 (9, 10-OCH₂O-), 107.0 (C-1), 110.9 (C-4), 111.6 (C-11), 117.0 (C-8a), 121.3 (C-12), 126.1 (C-14a), 128.8 (C-12a), 130.5 (C-4a), 143.4 (C-10), 144.1 (C-9), 145.1 (C-3), 145.3 (C-2)。上述数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **5** 为碎叶紫堇碱。

化合物 **6**: 无定形粉末, C₁₉H₂₁NO₄, ESI-MS m/z :

328 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.63 (1H, m, H-6 α), 2.67 (1H, d, $J = 12.3$ Hz, H-5 α), 2.83 (1H, dd, $J = 11.7, 15.0$ Hz, H-13 α), 3.11 (1H, m, H-5 β), 3.18 (1H, m, H-6 β), 3.21 (1H, dd, $J = 4.2, 15.0$ Hz, H-13 β), 3.53 (2H, d, $J = 15.0$ Hz, H-8 α , 14), 3.86 (6H, s, 3, 10-OCH₃), 4.24 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-8 β), 6.59 (1H, s, H-4), 6.66 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-12), 6.72 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-11), 6.81 (1H, s, H-1); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 29.5 (C-5), 36.6 (C-13), 51.9 (C-6), 53.8 (C-8), 56.2 (10-OCH₃), 56.5 (3-OCH₃), 59.5 (C-14), 109.2 (C-1), 110.9 (C-11), 111.7 (C-4), 119.5 (C-12), 121.4 (C-8a), 126.3 (C-14a), 128.4 (C-12a), 130.8 (C-4a), 141.7 (C-9), 144.2 (C-3), 144.4 (C-10), 145.3 (C-2)。上述数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为斯氏紫堇碱。

化合物 **7**: 白色无定形粉末, $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$, ESI-MS m/z : 354 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.94 (3H, s, $N\text{-CH}_3$), 2.55 (2H, brs, H-5), 3.59 (2H, br s, H-8), 3.79 (2H, brs, H-13), 5.92 (2H, s, 9, 10-OCH₂O-), 5.95 (2H, s, 2, 3-OCH₂O-), 6.64 (1H, s, H-4), 6.66 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12), 6.67 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-11), 6.90 (1H, s, H-1); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ : 32.1 (C-5), 41.8 ($N\text{-CH}_3$), 46.8 (C-13), 51.1 (C-8), 58.1 (C-6), 101.1 (9, 10-OCH₂O-), 101.4 (2, 3-OCH₂O-), 107.0 (C-11), 108.4 (C-1), 110.7 (C-4), 118.1 (C-8a), 125.3 (C-12), 129.1 (C-12a), 132.9 (C-4a), 136.3 (C-14a), 146.1 (C-9), 146.2 (C-10), 146.5 (C-2), 148.2 (C-3), 180.1 (C-14)。上述数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为原阿片碱。

化合物 **8**: 橘色针晶, $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{NO}_4$, ESI-MS m/z : 322 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 3.18 (2H, t, $J = 5.1$ Hz, H-5), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 4.87 (2H, t, $J = 5.1$ Hz, H-6), 6.50 (2H, s, -OCH₂O-), 7.02 (1H, s, H-4), 7.49 (1H, s, H-1), 7.84 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-11), 7.98 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-12), 8.79 (1H, s, H-13), 9.35 (1H, s, H-8), 9.89 (1H, s, 2-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 26.8 (C-5), 56.2 (C-6), 56.7 (3-OCH₃), 105.1 (9, 10-OCH₂O-), 112.1 (C-12), 112.3 (C-1), 112.8 (C-11), 119.8 (C-14a), 121.1 (C-12), 121.5 (C-13), 122.4 (C-14), 127.6 (C-12a), 133.1 (C-8a), 137.8 (C-4a), 144.3 (C-8), 145.1 (C-10), 147.0 (C-9), 147.5 (C-3), 151.2 (C-2)。上述数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **8** 为去氢碎叶紫堇碱。

化合物 **9**: 黄色无定形粉末, $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4$, ESI-MS m/z : 336 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 2.88 (3H, s, 13-CH₃), 3.18 (2H, t, $J = 5.4$ Hz, H-5), 3.88 (3H, s, 2-OCH₃), 4.86 (2H, t, $J = 5.4$ Hz, H-6), 6.52 (2H, s, -OCH₂O-), 7.06 (1H, s, H-4), 7.75 (1H, s, H-1), 7.80 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-12), 8.02 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-11), 9.92 (1H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 18.2 (13-CH₃), 26.3 (C-5), 55.0 (C-6), 55.8 (2-OCH₃), 104.3 (-OCH₂O-), 105.1 (C-1), 108.3 (C-4), 111.5 (C-8a), 119.0 (C-14a), 120.8 (C-11), 121.5 (C-12), 130.4 (C-4a), 131.7 (C-12), 132.1 (C-13), 136.6 (C-14), 143.6 (C-8), 144.3 (C-9), 146.8 (C-10), 147.5 (C-3), 149.5 (C-2)。上述数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **9** 为脱氢异阿朴卡维汀。

化合物 **10**: 黄色无定形粉末, $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4$, ESI-MS m/z : 336 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ : 2.87 (2H, brs, H-5), 3.78 (3H, s, 10-OCH₃), 3.89 (3H, s, 9-OCH₃), 4.53 (2H, m, H-6), 5.76 (2H, s, 2, 3-OCH₂O-), 6.55 (1H, s, H-4), 6.72 (1H, s, H-1), 7.34 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-12), 7.58 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-11), 7.67 (1H, s, H-13), 9.28 (1H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, D_2O) δ : 26.4 (C-5), 56.0 (C-6), 56.8 (10-OCH₃), 62.4 (9-OCH₃), 102.5 (-OCH₂O-), 104.5 (C-1), 108.5 (C-4), 119.3 (C-13), 119.6 (C-14a), 121.4 (C-8a), 123.5 (C-12), 126.4 (C-11), 128.1 (C-4a), 132.9 (C-12a), 137.2 (C-14), 143.2 (C-9), 144.1 (C-8), 147.0 (C-2), 150.5 (C-3), 151.0 (C-10)。上述数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **10** 为小檗碱。

化合物 **11**: 红色无定形粉末, $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NO}_4$, ESI-MS m/z : 324 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CF_3COOD) δ : 3.31 (2H, t, $J = 5.0$ Hz, H-5), 4.03 (3H, s, 3-OCH₃), 4.13 (3H, s, 10-OCH₃), 4.88 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-6), 6.97 (1H, s, H-4), 7.64 (1H, s, H-1), 7.73 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-11), 7.92 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-12), 8.36 (1H, s, H-13), 9.54 (1H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CF_3COOD) δ : 29.3 (C-5), 57.9 (3-OCH₃), 58.7 (10-OCH₃), 58.9 (C-6), 112.9 (C-1), 113.7 (C-4), 121.8 (C-11), 121.9 (C-14a), 122.6 (C-12), 126.9 (C-13), 131.0 (C-12a), 134.3 (C-14), 135.4 (C-8a), 140.1 (C-4a), 145.0 (C-10), 146.0 (C-8), 146.8 (C-9), 147.7 (C-3), 152.7 (C-2)。上述数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **11** 为去氢分离木瓣树胺。

化合物 **12**: 浅黄色无定形粉末, $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{NO}_4$ 。

ESI-MS m/z : 348 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.49 (3H, s, $N\text{-CH}_3$), 3.82 (3H, s, 7-OCH₃), 3.87 (3H, s, 8-OCH₃), 5.42 (1H, s, 6-H), 6.13 (2H, s, -OCH₂O-), 7.17 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-9), 7.30 (1H, s, H-1), 7.52 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-12), 7.57 (1H, s, H-4), 7.70 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-10), 7.83 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 39.4 ($N\text{-CH}_3$), 56.6 (8-OCH₃), 61.6 (7-OCH₃), 84.6 (C-6), 100.5 (C-4), 101.9 (-OCH₂O-), 105.1 (C-1), 113.9 (C-9), 119.4 (C-10), 120.4 (C-11), 122.8 (C-10b), 123.9 (C-12), 124.8 (C-10a), 126.0 (C-4a), 126.7 (C-6a), 131.2 (C-12a), 138.8 (C-4b), 146.6 (C-7), 147.8 (C-2), 148.4 (C-3), 152.4 (C-8)。上述数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **12** 为白屈菜红碱。

化合物 **13**: 黄色无定形粉末, $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ 。ESI-MS m/z : 350 $[M]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.96 (1H, s, 13-CH₃), 3.13 (2H, t, $J = 9.0$ Hz, H-5), 3.84 (3H, s, -OCH₃), 3.88 (3H, s, -OCH₃), 4.78 (2H, t, $J = 9.0$ Hz, H-6), 6.54 (2H, s, -OCH₂O-), 7.15 (1H, s, H-1), 7.36 (1H, s, H-4), 7.98 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-12), 8.04 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-11), 9.92 (1H, s, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 19.0 (13-CH₃), 27.6 (C-5), 56.6 (-OCH₃), 57.0 (-OCH₃), 57.5 (C-6), 105.4 (-OCH₂O-), 111.6 (C-4), 111.7 (C-1), 115.2 (C-11), 119.8 (C-12), 120.1 (C-13), 120.8 (C-14a), 131.1 (C-14), 132.4 (C-12a), 133.1 (C-8a), 136.3 (C-4a), 143.7 (C-8), 145.3 (C-10), 147.6 (C-9), 147.8 (C-3), 151.3 (C-2)。上述数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **13** 为脱氢卡维汀。

化合物 **14**: 黄色无定形粉末, $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_2$ 。ESI-MS m/z : 193 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.30 (3H, s, $N\text{-CH}_3$), 2.53 (2H, t, $J = 5.6$ Hz, H-4), 2.68 (2H, t, $J = 5.6$ Hz, H-3), 3.47 (2H, brs, H-1), 3.71 (3H, s, 6-OCH₃), 6.44 (1H, s, H-8), 6.61 (1H, s, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 28.7 (C-4), 46.1 ($N\text{-CH}_3$), 53.1 (C-3), 56.1 (6-OCH₃), 57.3 (C-1), 112.7 (C-5), 113.6 (C-8), 124.5 (C-4a), 127.4 (C-8a), 144.9 (C-7), 146.7 (C-6)。上述数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **14** 为黄堇碱。

化合物 **15**: 淡黄色无定形粉末, $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ 。ESI-MS m/z : 342 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 2.57 (2H, d, $J = 13.2$ Hz, H-7), 2.76 (2H, d, $J = 16.5$ Hz, H-4), 2.86 (3H, s, $N\text{-CH}_3$), 3.08

(2H, d, $J = 11.7$ Hz, H-5), 3.37 (3H, s, 1-OCH₃), 3.65 (3H, s, 10-OCH₃), 3.67 (3H, s, 2-OCH₃), 4.28 (1H, d, $J = 13.2$ Hz, H-6a), 6.33 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-8), 6.46 (1H, s, H-3), 6.58 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 24.0 (C-4), 31.3 (C-7), 43.3 ($N\text{-CH}_3$), 53.4 (C-5), 56.0 (10-OCH₃), 56.5 (2-OCH₃), 61.2 (1-OCH₃), 69.9 (C-6a), 109.4 (C-3), 110.5 (C-9), 112.4 (C-8), 113.2 (C-11a), 120.7 (C-11b), 123.3 (C-3a), 123.7 (C-6b), 125.8 (C-7a), 150.9 (C-1), 151.8 (C-11), 152.6 (C-10), 153.0 (C-2)。上述数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **15** 为异紫堇定碱。

化合物 **16**: 淡黄色无定形粉末, $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ 。HR-ESI-MS m/z : 328.160 4 $[M+H]^+$ (计算值 328.154 33)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.83 (1H, m, H-15), 1.94 (1H, m, H-15), 2.45 (3H, s, $N\text{-CH}_3$), 2.59 (2H, m, H-16), 3.00 (1H, dd, $J = 4.8, 13.5$ Hz, H-10), 3.31 (1H, d, $J = 13.5$ Hz, H-10), 3.68 (1H, dd, $J = 6.8, 12.8$ Hz, H-9), 3.80 (3H, s, 6-OCH₃), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 6.31 (1H, s, H-8), 6.34 (1H, s, H-5), 6.70 (1H, s, H-1), 6.78 (1H, s, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃) δ : 32.4 (C-10), 41.3 (C-15), 41.6 ($N\text{-CH}_3$), 42.3 (C-13), 45.7 (C-16), 55.1 (6-OCH₃), 56.2 (3-OCH₃), 60.8 (C-9), 107.6 (C-4), 113.6 (C-1), 118.9 (C-5), 122.3 (C-8), 129.3 (C-11), 129.6 (C-12), 144.9 (C-2), 145.8 (C-3), 151.4 (C-6), 161.6 (C-14), 180.9 (C-7)。上述数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **16** 为深山黄堇碱。

3.2 抗氧化活性

岩黄连中 9 种生物碱的体外清除自由基活性结果见表 1, 其 IC_{50} 在 0.25~16.51 mg/mL。

进行抗氧化活性构效关系研究, 分别比较考察 3 对结构类似的叔胺碱与季胺碱(碎叶紫堇碱和去氢碎叶紫堇碱、卡维汀和脱氢卡维汀、氢化小檗碱与小檗碱)清除 DPPH 自由基活性的能力, 结果表明叔胺碱的抗氧化活性要高于其相应的季胺碱, 其原因可能是叔胺碱上的 N 原子可提供一对电子, 供自由基结合, 从而提高其抗氧化活性。

比较考察碎叶紫堇碱与氢化小檗碱二者清除 DPPH 自由基活性的能力, 结果表明碎叶紫堇碱的活性高于氢化小檗碱, 原因可能是碎叶紫堇碱的 2 位为酚羟基, 而氢化小檗碱的 2 位为甲氧基, 酚羟基可电离成氧负离子, 氧负离子可提供一对电子与自由基进行结合, 可提高其抗氧化活性。

比较考察氢化小檗碱与卡维汀清除 DPPH 自由基

表1 岩黄连中9种生物碱体外清除自由基活性检测结果

Table 1 Determination of nine alkaloids from *C. saxicola* on *in vitro* scavenging free radical of DPPH

化合物	清除动力学模型	R^2	P 值	$IC_{50} / (mg \cdot mL^{-1})$
卡维汀	$Y = 7.20X + 0.66$	0.953 6	0.004	6.85
碎叶紫堇碱	$Y = 86.65 - \frac{1073.67}{1 + e^{\frac{X+1.02}{0.38}}}$	0.999 9	0.009	0.25
四氢巴马汀	$Y = 12.75X + 1.69$	0.977 6	0.001	3.79
刺罂粟碱	$Y = 19.45X + 0.23$	0.895 4	0.015	2.56
氢化小檗碱	$Y = 21.14X + 3.95$	0.999 8	<0.001	2.18
脱氢卡维汀	$Y = 3.22X - 3.18$	0.886 5	0.017	16.51
去氢碎叶紫堇碱	$Y = 28.86X + 2.86$	0.990 3	<0.001	1.63
小檗碱	$Y = 6.62X + 1.01$	0.970 1	0.002	7.40
深山黄堇碱	$Y = 94.38 - \frac{1432.72}{1 + e^{\frac{X+2.88}{1.13}}}$	0.999 3	<0.001	1.00

活性的能力, 结果表明氢化小檗碱的活性高于卡维汀, 原因可能是 13 位上甲基的存在增加了化合物与自由基结合的位阻, 从而导致抗氧化活性的下降。

考察岩黄连中 9 种生物碱清除 DPPH 自由基的动力学模型, 活性最高的 2 个化合物(碎叶紫堇碱与深山黄堇碱)为非线性清除 DPPH 自由基, 属于 S 型曲线模型, 具体原因尚待考察, 其他生物碱清除 DPPH 自由基的模型为线性, 表明其 DPPH 自由基清除能力呈剂量依赖性。

因此, 岩黄连具有良好的抗氧化活性物质基础, 研究结果可为岩黄连作为一种抗炎中药的开发提供一定的参考价值。

参考文献

- [1] 广西中药材标准 [S]. 1990.
- [2] 韦记青, 蒋水元, 蒋运生, 等. 药用植物岩黄连研究概述 [J]. 广西科学院学报, 2006, 22(2): 108-111.
- [3] 孙宁玲, 陆国才, 袁伯俊, 等. 岩黄连研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(1): 78-80.
- [4] Kong W, Wei J, Abidi P, *et al.* Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins [J]. *Nat Med*, 2004, 10(12): 1344-1351.
- [5] Brusq J M, Ancellin N, Grondin P, *et al.* Inhibition of lipid synthesis through activation of AMP kinase: an additional mechanism for the hypolipidemic effects of berberine [J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(6): 1281-1288.
- [6] Huang C, Zhang Y B, Gong Z W, *et al.* Berberine inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation through the PPAR gamma pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 348(2): 571-578.
- [7] 柯珉珉, 张宪德, 吴练中, 等. 岩黄连有效成分的研究 [J]. 植物学报, 1982, 24(3): 289-291.
- [8] Chrzanowska M. Synthesis of isoquinoline alkaloids, total

synthesis of ($\pm$)-stylopine [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58: 401-407.

- [9] Saito S, Tanaka M, Matsunaga K, *et al.* The combination of rat mast cell and rabbit aortic smooth muscle is the simple bioassay for the screening of anti-allergic ingredient from methanolic extract of corydalis tuber [J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(8): 1270-1274.
- [10] Wangchuk P, Keller P A, Pyne S G, *et al.* Antimalarial alkaloids from a Bhutanese traditional medicinal plant *Corydalis dubia* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 143(1): 310-313.
- [11] Seger C, Sturm S, Strasser E M, *et al.* 1H and ^{13}C -NMR signal assignment of benzyloisoquinoline alkaloids from *Fumaria officinalis* L. (Papaveraceae). [J]. *Magn Reson. Chem*, 2004, 42(10): 882-886.
- [12] Pandey V B, Ray A B, Dasgupta B. Quaternary alkaloids of *Fumaria indica* [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15: 545-546.
- [13] 李慧梁. 岩黄连活性成分系统研究及藜芦毒性成分研究. [D]. 上海: 第二军医大学, 2006.
- [14] Huang M J, Lee K S, Hurley S J. Nuclear magnetic resonance spectral analysis and molecular properties of berberine [J]. *Int J Quantum Chem*, 2005, 105(4): 396-409.
- [15] Chattopadhyay S K, Ray A B, Slatkin D J, *et al.* Quaternary alkaloids of *Thalictrum foliolosum* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(11): 2607-2610.
- [16] Seckarova P, Marek R, Dostal J, *et al.* Structural studies of benzophenanthridine alkaloid free bases by NMR spectroscopy [J]. *Magn Reson Chem*, 2002, 40: 147-152.
- [17] Bhakuni D S, Chaturvedi R. The alkaloids of *Corydalis meifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1983, 46(3): 321-324.
- [18] Jendrzejewski S. Degradation of reticuline in Berberis suspension cultures [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(1): 135-139.
- [19] 徐蔚, 宋启示, 王培, 等. 对叶榕叶和细枝的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(6): 1003-1005.
- [20] Gan L S, Yao W, Mo J X, *et al.* Alkaloids from *Lindera aggregate* [J]. *Nat Prod Commun*, 2009, 4(1): 43-49.