

红参中美拉德反应产物研究

初红梅¹, 曲桂武², 戴胜军^{1,2}, 李桂生^{1,2*}

(1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005; 2. 吉林长白绿叶人参产业有限公司, 山东 烟台 264670)

〔摘要〕 目的:对红参 *Panax ginseng* C. A. Meyer. 中美拉德反应产物进行研究。方法:采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、制备薄层及高效液相色谱等方法分离化合物,根据理化性质和波谱数据鉴定其结构。结果:分离并鉴定了 9 个化合物,分别为丙酮-1-*O*- α -*D*-甘露糖苷(1),5-羟甲基糠醛(2),3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮(3),烟酸(4),4-甲氧基烟酸(5),异麦芽酚-3-*O*- α -*D*-甘露糖苷(6),阿魏酸(7),对羟基桂皮酸(8),芒柄花素(9)。结论:化合物 1~6 为美拉德反应产物,7~8 为苯丙酸类化合物,9 为异黄酮类化合物;其中化合物 1 为新化合物,化合物 4~5 及 7~9 均为首次从红参中发现。

〔关键词〕 五加科;红参;美拉德反应产物;丙酮-1-*O*- α -*D*-甘露糖苷

〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2014)09-0086-04

〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfx.2014090086

Study on Maillard Reaction Products from Chinese Red Ginseng

CHU Hong-mei¹, QU Gui-wu², DAI Sheng-jun^{1,2}, LI Gui-sheng^{1,2*}

(1. School of Pharmaceutical Science, Yantai University, Yantai 264005, China;

2. Jilin Changbai-Luye Ginseng Industry Co. Ltd., Yantai 264670, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To investigate the Maillard reaction products from Chinese red Ginseng. **Method:** The compounds were isolated and purified by column chromatography over silica gel and Sephadex LH-20, preparative TLC and preparative HPLC. The structures were elucidated by means of physico-chemical properties and spectral data. **Result:** Nine compounds were separated and identified as: ketopropyl-1-*O*- α -*D*-mannopyranoside (1), 5-hydroxymethyl-2-furfural (2), 3-hydroxyl-2-methyl-pyrone (3), nicotinic acid (4), 4-methoxyl nicotinic acid (5), isomaltol-3-*O*- α -*D*-mannopyranoside (6), ferulic acid (7), *p*-hydroxycinnamic acid (8), formononetin (9). **Conclusion:** Compounds 1-6 were attainable to Maillard reaction products, 7-8 due to phenylpropionic acids and 9 due to isoflavone, furthermore, compound 1 was a new one, and compounds 4-5

〔收稿日期〕 20130627(006)

〔基金项目〕 吉林省科技发展计划项目(YYZX201113)

〔第一作者〕 初红梅,在读硕士,从事天然产物化学的研究,Tel:13854599082,E-mail:chu_hong_mei@sina.com

〔通讯作者〕 *李桂生,博士,教授,从事生药学及天然产物化学的研究,Tel:0535-380010,Fax:0535-3800101,E-mail:guisheng@luye.cn

〔参考文献〕

[1] 国家药品监督管理局国家药品标准(试行)WS-10237(ZD-0237)-2002(s).51.

[2] 国家药品监督管理局国家药品标准(试行)WS-10237(ZD-0237)-2002-2011Z(S).

[3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:376.

[4] 张玲,刘振丽,宋志前,等.四君子汤和理中丸中甘草酸及甘草苷含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(6):4.

[5] 陈璐,许润春,邹文铨,等.甘草-青黛药对配伍的增溶作用考察[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(23):17.

[6] 张幸福,高效液相色谱法测定十五味龙胆花丸中甘草酸的含量[J].药物分析杂志,2009,29(4):653.

[7] 王小丽,陈思东.甘草酸作用的研究进展[J].中国医药导报,2012,9(24):21.

〔责任编辑 顾雪竹〕

and 7-9 were obtained from Chinese red Ginseng for the first time.

[Key words] Araliaceae; Chinese red Ginseng; Maillard reaction products; ketopropyl-1-*O*- α -*D*-mannopyranoside

红参为五加科植物人参的根及根茎的加工炮制品^[1],具有大补元气、复脉固脱、益气摄血等功效。红参的主要有效成分是人参皂苷,此外还包括多糖、氨基酸、多肽、挥发油、维生素等类型化合物。

在鲜参加工炮制成红参的过程中,蒸制不仅会使其中人参皂苷的种类和含量发生变化,而且还会促使其中的氨基酸和还原糖发生美拉德反应,即羰基化合物(主要是还原糖)与连接有氨基的化合物(氨基酸、蛋白质等)之间发生的缩合、聚合反应,从而生成多种美拉德反应产物。现代药理研究表明,美拉德反应产物一般都具有良好的生理活性。1953年 Hodge 等首次报道了美拉德反应产物具有防止植物油氧化的作用^[2]。Ki Sung Kang 等对白参和红参比较研究发现,加热处理能够提高人参的自由基清除能力^[3]。Dae-Yeon Suh 等对红参中美拉德反应产物的研究表明,麦芽酚具有良好的抗氧化作用^[4]。据报道美拉德反应产物除具有清除自由基、抗氧化的作用外,还具有抑菌、抑制脂质过氧化、抗突变、细胞保护等功效^[5]。相比与白参,红参具有更好的抗氧化、抗癌、提高机体免疫力等方面的功效,这与美拉德反应产物抗氧化、抗突变、抗细胞毒等作用具有良好的相关性。对于红参的化学研究主要集中于人参皂苷的变化,而对炮制过程中产生的美拉德反应产物却鲜有研究。

课题组以早期发现的麦芽酚为对照品,采用薄层色谱、高效液相及液相-质谱联用等方法,发现红参中含有许多不同的美拉德反应产物。为了进一步明确红参中的美拉德反应产物,规范红参的炮制工艺,作者对红参中的美拉德反应产物进行了较系统研究,通过高效液相色谱(HPLC-UV)对比分析,并采用波谱学方法对其化学结构进行阐明。

1 仪器与试剂

XT-4 微型熔点测定仪(温度未校正),Autospec-Ultima ETOF 型质谱仪,Perkin-Elmer 683 型红外光谱仪,UV-2550 型紫外-可见分光光度计,LC 3000 制备型高效液相色谱仪,Waters 2695 型高效液相色谱仪,Perkin-Elmer 241 型旋光仪,Varian Unity BRUKER 400 型核磁共振仪(TMS 内标),薄层色谱硅胶(GF₂₅₄)和柱色谱硅胶(200~300目)均为青岛海洋化工厂产品,Sephadex LH-20 为北京金欧亚进

口分装产品。鲜人参购自吉林省长白县,由烟台大学药学院生药室李桂生教授鉴定为五加科人参属植物 *Panax ginseng* C. A. Meyer 人参的根及根茎。将采收的鲜人参清洗干净,在 100 ℃ 温度下蒸制 2 h,至参根呈黄色,皮呈半透明状,取出晾干。

2 提取和分离

取红参 30.0 kg,用 75% 乙醇加热回流提取 3 次,提取液合并、减压浓缩至浸膏,然后依次用三氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇反复萃取,萃取液分别合并、减压浓缩,得三氯甲烷部位 269 g、乙酸乙酯部位 64 g。三氯甲烷部位首先通过硅胶柱色谱,环己烷-丙酮梯度洗脱(100:0~50:50),得到 8 个组分,然后对其中的 2,6,8 组分进行分离;从组分 2 得到化合物 1(55 mg),从组分 6 得到化合物 2(110 mg)及 3(460 mg),从组分 8 得到化合物 7(74 mg)、8(62 mg)及 9(34 mg)。乙酸乙酯部位首先通过硅胶色谱柱,三氯甲烷-甲醇梯度洗脱(100:0~60:40),共得到 11 个组分,然后对其中的组分 4,8 进行分离,从组分 4 得到化合物 4(92 mg),从组分 8 得到化合物 5(67 mg)、6(109 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 白色针状结晶(甲醇),mp 162~164 ℃, $[\alpha]_{20D} + 153^\circ$ (c 0.21, MeOH)。FAB-MS m/z 237.3 $[M + H]^+$, HR-FAB-MS m/z 237.097 1 $[M + H]^+$ (calcd. 237.097 4),确定化合物分子式为 C₉H₁₆O₇。IR (KBr) cm⁻¹: 3 388 (—OH), 1 717 (—C=O)。在化合物的 NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz for ¹H, 100 MHz for ¹³C)图谱上,可观察到一组糖的信号,并借助化合物的同核化学位移相关实验(¹H-¹H-COSY)、异核单量子相关实验(HSQC)及异核多键相关实验(HMBC),将信号归属如下: δ_H 4.70 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-1'), 3.22 (1H, m, H-2'), 3.46 (1H, m, H-3'), 3.07 (1H, m, H-4'), 3.38 (1H, m, H-5'), 3.43 (1H, m, Ha-6'), 3.61 (1H, m, Hb-6'), 4.78 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, C₂'-OH), 4.84 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, C₃'-OH), 4.92 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, C₄'-OH), 4.46 (1H, t, $J = 5.6$ Hz, C₆'-OH); δ_C 98.6 (C-1'), 71.8 (C-2'), 73.1 (C-3'), 70.1 (C-4'), 73.2 (C-5'), 60.8 (C-6');以上 NMR 数据与 *D*-甘露糖的 NMR 数据的一致,故确定化合

物**1**结构中连接有一个D-甘露糖片段。此外,化合物**1**的NMR图谱还给出了一个单取代的丙酮信号: δ_{H} 2.12(3H, s, H_3 -3), 4.06(1H, $J = 17.1$ Hz, Ha-1), 4.17(1H, $J = 17.1$ Hz, Hb-1); δ_{C} 71.9(C-1), 206.8(C-2), 26.5(C-3)。在化合物**1**的HMBC图谱上(图1),发现Ha-1和Hb-1与C-1'相关,而H-1'与C-1相关,由此说明丙酮的C-1与D-甘露糖的C-1'通过氧原子相连接;在化合物的二维NOE(NOESY)图谱上图,可观察到H-1'与H-2'及C₂'-OH有NOE,而未发现H-1'与H-3'及H-4'之间有NOE,由此证实D-甘露糖的端基氢处于平伏键而不是直立键,亦即D-甘露糖的相对构型为 α 型。综合以上数据,确定化合物**1**为丙酮-1-O- α -D-甘露糖苷,该化合物为新的美拉德反应产物。

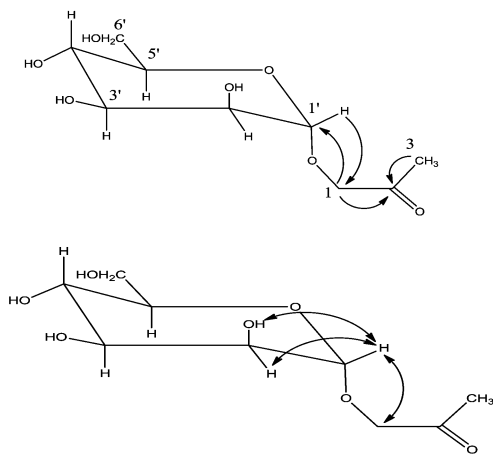


图1 化合物**1**的主要HMBC(→)及NOESY(↔)

化合物**2** 黄色油状物(丙酮),易溶于丙酮及甲醇。FAB-MS m/z 127.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.50(1H, s, -CHO), 7.49(1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-3), 6.60(1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-4), 4.50(2H, d, $J = 5.9$ Hz, H-6), 5.58(1H, t, $J = 5.9$ Hz, C₆-OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 178.0(-CHO), 151.9(C-2), 124.5(C-3), 109.9(C-4), 162.3(C-5), 56.0(C-6)。以上数据与5-羟甲基糠醛的数据[7]一致,故鉴定化合物**2**为5-羟甲基糠醛。

化合物**3** 白色结晶(甲醇), mp 158 ~ 160 °C, 易溶于甲醇、丙酮及三氯甲烷,与盐酸-镁粉反应呈橙红色。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 2.25(3H, s, -CH₃), 6.35(1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-5), 8.03(1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-6), 8.85(1H, s, C₃-OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 13.9(CH₃), 154.6(C-2), 149.2(C-3), 172.5(C-4), 113.5(C-

5), 142.9(C-6)。以上数据3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮的数据[8]一致,故确定化合物**3**为3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮。

化合物**4** 白色针状结晶(甲醇), mp 234 ~ 236 °C,与碘化铋钾反应呈棕红色。FAB-MS m/z 124.4 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 9.03(1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2), 8.27(1H, dd, $J = 7.7$, 1.8 Hz, H-4), 7.52(1H, dd, $J = 7.7$, 4.8 Hz, H-5), 8.71(1H, dd, $J = 4.8$, 1.8 Hz, H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 166.4(-C=O), 148.6(C-2), 129.7(C-3), 135.2(C-4), 123.4(C-5), 151.8(C-6)。以上数据与烟酸的数据[9]一致,故确定化合物**4**为烟酸。

化合物**5** 白色针状结晶(甲醇), mp 83 ~ 84 °C,与碘化铋钾反应呈棕红色。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 10.90(1H, s, -COOH), 7.95(1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2), 8.23(1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-5), 7.27(1H, dd, $J = 8.6$, 2.7 Hz, H-6), 3.82(3H, s, -OCH₃)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 164.9(-C=O), 156.8(C-2), 126.6(C-3), 138.1(C-4), 122.0(C-5), 138.3(C-6)。以上数据与4-甲氧基烟酸的数据[10]基本一致,故确定该化合物为4-甲氧基烟酸。

化合物**6** 白色片状结晶(甲醇),易溶于甲醇。mp 140 ~ 142 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 79.9^\circ$ ($c = 0.21$, CH₃OH)。FAB-MS m/z 311.3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。IR (KBr) cm^{-1} : 3468(-OH), 1650(-C=O), 1586(C=C)。UV (CH₃OH) λ_{max} 276 nm。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 2.38(3H, s, H₃-7), 6.80(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 7.83(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5), 5.52(1H, d, $J = 3.4$ Hz, 糖的端基氢质子), 3.47(1H, m, H-2'), 3.59(1H, m, H-3'), 3.16(1H, m, H-4'), 3.44(1H, m, H-5'), 3.48(1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-6'b), 3.57(1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-6'a)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 137.4(C-2), 152.5(C-3), 104.8(C-4), 147.3(C-5), 183.2(C-6), 27.4(C-7), 99.9(C-1'), 71.1(C-2'), 72.9(C-3'), 69.9(C-4'), 74.6(C-5'), 60.6(C-6')。以上数据与异麦芽酚-3-O- α -D-甘露糖苷数据[11]一致,故鉴定化合物**6**为异麦芽酚-3-O- α -D-甘露糖苷。

化合物**7** 无色针状结晶(甲醇), mp 169 ~ 171 °C,易溶于甲醇。FAB-MS m/z 217.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ : 12.08(1H,

s, -COOH), 9.50(1H, C₃-OH), 7.25(1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.79(1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 7.08(1H, dd, J = 1.8, 8.1 Hz, H-6), 7.44(1H, d, J = 15.8 Hz, H-7), 6.36(1H, d, J = 15.8 Hz, H-8), 3.80(3H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 125.9 (C-1), 115.4 (C-2), 148.9 (C-3), 148.9 (C-4), 115.4 (C-5), 122.6 (C-6), 143.8 (C-7), 111.0 (C-8), 168.3 (C-9), 55.8 (-OCH₃)。以上数据报道的阿魏酸数据[12]一致,故确定化合物**7**为阿魏酸。

化合物**8** 淡黄色针晶(丙酮), mp 211 ~ 212 °C。 FAB-MS m/z 165.4 [M + H]⁺。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 11.08(1H, s, -COOH), 9.03(1H, C₄-OH), 7.47(2H, d, J = 8.4 Hz, H-2, H-6), 6.81(2H, d, J = 8.4 Hz, H-3, H-5), 7.51(1H, d, J = 15.9 Hz, H-7), 6.29(1H, d, J = 15.9 Hz, H-8)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 125.3 (C-1), 130.1 (C-2, C-6), 115.6 (C-3, C-5), 159.6 (C-4), 144.1 (C-7), 115.1 (C-8), 168.0 (C-9)。以上数据与对羟基桂皮酸的数据[13]一致,故确定化合物**8**为对羟基桂皮酸。

化合物**9** 白色针状结晶(三氯甲烷-甲醇), mp 258 ~ 260 °C, 微溶于三氯甲烷, 溶于丙酮、甲醇。 IR (KBr) cm⁻¹: 3 389 (-OH), 1 643 (-C=O), 1 611, 1 514, 1 447 (-Arom.)。 ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 10.81(1H, s, C₇-OH), 8.31(1H, s, H-2), 7.97(1H, d, J = 8.7 Hz, H-5), 6.93(1H, dd, J = 8.7, 2.1 Hz, H-6), 6.87(1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 7.51(2H, d, J = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.99(2H, d, J = 8.7 Hz, H-3', 5'), 3.78(3H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 153.1 (C-2), 124.3 (C-3), 174.6 (C-4), 127.3 (C-5), 115.6 (C-6), 162.5 (C-7), 102.1 (C-8), 157.4 (C-9), 116.6 (C-10), 123.1 (C-1'), 213.0 (C-2', 6'), 113.5 (C-3', 5'), 158.9 (C-4'), 55.1 (-OCH₃)。以上数据与芒柄花素的数据[14]一致,故确定化合

物**9**为芒柄花素。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:143.
- [2] Hodgej, Ristce. The amadoir rearrangement under new conditions and its significance for non-enzymatic browning reactions[J]. JAM Chemsoc, 1953, 75:316.
- [3] Ki Sung KANG, Hyun Young KIM, Jae Sung PYO, et al. Increase in the free radical scavenging activity of ginseng by heating processing[J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(4):750.
- [4] Dae-Yeon Suh, Yong Nam Han, Byung Hoon Han. Maltol, an antioxidant component of Korean Red Ginseng, shows little prooxidant activity[J]. Arch Pharm Res, 1996, 19(2):112.
- [5] 曹治云, 陈旭征, 杜建. 美拉德反应产物的生物学效应研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2012, 20(7):1491.
- [6] 吴立军. 天然药物化学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1988:89.
- [7] 袁久志, 吴立军, 陈英杰, 等. 土茯苓化学成分的分选与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2004, 14(5):291.
- [8] 魏均嫔. 朝鲜红参成分的研究-3-羟基-2-甲基-4-吡喃酮的分选及鉴定[J]. 药学报, 1982, 17(7):449.
- [9] 李微, 陈发奎, 尹相武, 等. 大青叶的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(1):15.
- [10] 郑岩, 刘焯, 白焱晶, 等. 鸡血藤黄酮类化合物的研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(2):152.
- [11] 郑春辉. 土贝母化学成分研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2005.
- [12] 相宇, 李友宾, 张健, 等. 猪毛菜化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(5):409.
- [13] 郑俊霞, 王乃利, 陈海峰, 等. 翠云草中酚性成分的分选与鉴定[J]. 中国药物化学杂志, 2007, 12(5):302.
- [14] 李彬, 陈万升, 杨根金, 等. 四倍体板蓝根中的有机酸类成分[J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(3):207.

[责任编辑 邹晓翠]