

# 淡豆豉抗菌活性及化学成分分析

胡斌<sup>1</sup>, 王秋红<sup>2</sup>, 姜海<sup>1</sup>, 王知斌<sup>1</sup>, 匡海学<sup>1\*</sup>

- (1. 黑龙江中医药大学 教育部北药基础与应用研究重点实验室 黑龙江省中药及天然药物药效物质基础研究重点实验室, 哈尔滨 150040;  
2. 广东药科大学 中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:研究传统发酵中药淡豆豉的抗菌活性及化学成分。方法:淡豆豉80%乙醇提取物用适量蒸馏水混悬,依次用石油醚、乙酸乙酯及水饱和正丁醇萃取,得石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取部分及水层,利用体外抗菌法筛选和追踪抗菌活性部分,采用硅胶柱色谱等方法及制备HPLC对抗菌活性最强部分进行分离纯化,得单体化合物,并根据化合物的理化性质和<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, MS等波谱数据鉴定其结构。结果:淡豆豉80%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分显示最强的抗菌活性,该有效部分对呼吸道致病菌及其他常见致病菌均显示较强的抗菌活性,正丁醇萃取部分和石油醚萃取部分次之。从乙酸乙酯萃取部分分离得到18个化合物,鉴定了其中11个化合物的化学结构,分别为大豆素(1),大豆苷(2),染料木素(3),染料木苷(4),黄豆黄素(5),黄豆黄苷(6),胡萝卜苷(7),胸腺嘧啶(8),腺嘌呤(9),尿嘧啶(10),尿苷(11)。结论:淡豆豉80%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部分抗菌效果明显。化合物1~6为异黄酮类;化合物7~11为首次从该药材中分离得到。

**[关键词]** 淡豆豉; 抗菌活性; 化学成分; 异黄酮

**[中图分类号]** R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)06-0163-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190612

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181204.1025.007.html>

**[网络出版时间]** 2018-12-05 16:04

## Antibacterial Activity and Chemical Constituents of Sojæ Semen Praeparatum

HU Bin<sup>1</sup>, WANG Qiu-hong<sup>2</sup>, JIANG Hai<sup>1</sup>, WANG Zhi-bin<sup>1</sup>, KUANG Hai-xue<sup>1\*</sup>

- (1. Key Laboratory of Chinese Materia Medica, Key Laboratory of Basic and Application Research of Northern Medicine under Ministry of Education, Heilongjiang Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) and Natural Medicine Pharmacodynamic Material Bases, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;  
2. School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the antibacterial activity and chemical constituents of Sojæ Semen Praeparatum as a traditional Chinese medicine. **Method:** Sojæ Semen Praeparatum was extracted with 80% ethanol, and the extracts were suspended in an appropriate amount of distilled water and extracted with petroleum ether, ethyl acetate and water saturated *n*-butanol in turn. The antibacterial activity *in vitro* was used for screening the active fractions. Using activity-guided-isolation, the active fractions were isolated and purified by silica gel column chromatography and preparative HPLC and other methods. Their structures were identified by physicochemical properties and spectroscopic analysis, such as <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR and MS. **Result:** The ethyl acetate fraction of 80% ethanol extract from Sojæ Semen Praeparatum showed a stronger activity and was studied further. Eighteen compounds were isolated, and eleven compounds were identified as daidzein (1), daidzin (2),

**[收稿日期]** 20180913 (011)

**[基金项目]** 广东省中药饮片规范化炮制工程技术研究项目(51348114)

**[第一作者]** 胡斌,在读博士,从事中药及复方药效物质基础研究, E-mail: hubin12332117@sina.com

**[通信作者]** \*匡海学,博士,教授,从事中药及复方药效物质基础研究, Tel:0451-87267188, E-mail: haixuekuang@163.com

genistein (3), genistin (4), glycitein (5), glycitin (6), daucosterol (7), thymine (8), adenine (9), uracil (10), uridine (11). **Conclusion:** The ethyl acetate fraction of 80% ethanol extract from Sojæ Semen Praeparatum shows an antibacterial activity. Compounds 1-6 are isoflavones. Compounds 7-11 are isolated from Sojæ Semen Praeparatum for the first time.

[**Key words**] Sojæ Semen Praeparatum; antibacterial activity; chemical constituents; isoflavone

淡豆豉 (Sojæ Semen Praeparatum) 别名香豉 (《伤寒论》)<sup>[1]</sup>, 为大豆的成熟种子 (黑色者) 与桑叶、青蒿经过一定的方法发酵加工而成。本品性味苦、辛、凉; 归肺、胃经。具有解表, 除烦, 宣发郁热之功效; 用于感冒, 寒热头痛, 烦躁胸闷, 虚烦不眠<sup>[2]</sup>。目前淡豆豉的研究主要集中在发酵工艺和发酵过程中微生物的变化方面, 以及降血脂、抗氧化、降血糖、抗癌、溶解血栓和类雌激素等生理功能方面<sup>[3-5]</sup>。在化学成分分离鉴定方面研究较少, 抗菌活性物质研究则尚属空白。淡豆豉常与其他药物配伍用于治疗感冒、痢疾等, 现代医学研究表明这些疾病皆易合并细菌感染, 基于此, 推测淡豆豉中可能存在抗菌活性物质。本研究利用体外抗菌实验法 (试管内药液稀释法)<sup>[6]</sup> 筛选和追踪抗菌活性部分, 并对抗菌活性最强的乙酸乙酯部分进行分离, 从中分离得到了 11 个化合物, 分别鉴定为大豆素 (1), 大豆苷 (2), 染料木素 (3), 染料木苷 (4), 黄豆黄素 (5), 黄豆黄苷 (6), 胡萝卜苷 (7), 胸腺嘧啶 (8), 腺嘌呤 (9), 尿嘧啶 (10) 和尿苷 (11)。其中化合物 1~6 为异黄酮类; 化合物 7~11 为首次从该药材中分离得到。

## 1 材料

AM-400 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司, TMS 为内标); Xero-Q-TOF-MS 型质谱仪, 2695 型分析高效液相色谱仪 (2996 型检测器), 600 型制备高效液相色谱仪 (2487 型检测器) (美国 Waters 公司); PH-71 型电热恒温培养箱 (天津市泰斯特仪器有限公司); 微量加样器 (10~100  $\mu\text{L}$ , 上海宙辉生化仪器有限公司); 洁净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); 色谱柱 Hypersil ODS II (4.6 mm  $\times$  200 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 色谱柱 Hypersil-ODS II (20 mm  $\times$  300 mm, 10  $\mu\text{m}$ ) (大连依利特公司); 柱色谱硅胶 (80~100, 200~300 目), 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工有限公司); 化学试剂均为分析纯 (天津试剂一厂), 显色剂 10% 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  乙醇溶液, 注射用阿奇霉素 (河南辅仁怀庆堂制药有限公司, 批号 0905252)。

淡豆豉采购于亳州市中药饮片厂, 经黑龙江中医药大学药学院王振月教授鉴定为大豆 *Glycine max* 的成熟种子 (黑色者) 的发酵品, 标本保存于黑龙江

中医药大学药学院中药炮制实验室。

痢疾杆菌 *Shigella dysenteriae*, 福氏痢疾杆菌 *S. flexneri*, 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*, 白色葡萄球菌 *S. albus*, 柠檬色葡萄球菌 *S. citreus*, 乙型副伤寒杆菌  *$\beta$ -paratyphoid bacillus* 和大肠埃希菌 *Escherichia coli* 由黑龙江中医药大学微生物与免疫教研室提供。

## 2 方法

**2.1 活性部分筛选及初步分离** 取干燥的淡豆豉粉末 14.9 kg 用 80% 乙醇冷浸 12 h (溶剂原料体积比 3:1), 加热回流提取 2 h, 提取 2 次, 提取液减压浓缩至无醇味, 得提取物 1.35 kg (提取率 9.05%)。将该提取物以适量蒸馏水混悬, 分别以 0.5 倍水溶液体积的石油醚、乙酸乙酯、水饱和和正丁醇萃取, 各萃取 5 遍, 得乙酸乙酯萃取物 77.4 g (提取率 0.52%)。对各萃取部分进行体外抗菌实验, 结果表明乙酸乙酯部分具有较强的抗菌活性, 故将这个部分确定为抗菌的有效部分。取乙酸乙酯萃取物 70 g 上硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (40:1~0:1) 梯度洗脱, 以硅胶薄层色谱合并成分相似部分, 得流分 Fr. 1~Fr. 12。

**2.2 活性追踪及分离** 利用体外抗菌实验对 Fr. 1~Fr. 12 进行活性追踪, 结果表明 Fr. 1, Fr. 2, Fr. 5, Fr. 6, Fr. 7, Fr. 8, Fr. 9, Fr. 11 共 8 个部分抗菌活性较强。对以上 8 个抗菌活性较强的部分进行系统分离。Fr. 1 经二氯甲烷-甲醇 (70:1) 洗脱, 得到化合物 3 (31 mg)。Fr. 2 经石油醚-乙酸乙酯 (10:1~0:1) 洗脱, 组分经反复分离纯化得化合物 5 (87 mg)。Fr. 5 经二氯甲烷-甲醇 (50:1~0:1) 洗脱, 组分反复分离纯化得化合物 1 (27 mg), 亚流分 Fr. 5(2), Fr. 5(3); Fr. 5(2) 经制备型 HPLC, 流动相为甲醇-水 (10:90), 流速 8  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 得化合物 10 (42 mg); Fr. 5(3) 经制备型 HPLC, 流动相甲醇-水 (60:40), 流速 6  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 得化合物 8 (15 mg)。Fr. 6 二氯甲烷-甲醇 (15:1~0:1) 洗脱, 得化合物 7 (45 mg)。Fr. 7 经二氯甲烷-甲醇 (25:1~0:1) 洗脱, 组分经反复分离纯化得化合物 4 (11 mg), 11 (7 mg)。Fr. 8 二氯甲烷-甲醇 (20:1~0:1) 洗脱, 经

反复分离纯化得化合物 **9** (13 mg) 及亚流分 Fr. 8 (3), Fr. 8(4); Fr. 8(3) 经制备型 HPLC, 流动相为甲醇-水 (40 : 60), 流速  $8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 得化合物 **6** (5 mg)。Fr. 8(4) 经制备型 HPLC, 流动相为甲醇-水 (30 : 70), 流速  $8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 得化合物 **2** (6 mg)。

### 3 抗菌活性

淡豆豉 80% 乙醇提取物各萃取部分的最小抑菌浓度 (MIC) 及最小杀菌浓度 (MBC) 结果分别见表 1, 2, 阿奇霉素作为阳性对照。抗菌结果表明, 5 个部分中, 整体上乙酸乙酯层抑菌及杀菌浓度最低, 效果最好。正丁醇层及石油醚层次之。水层及水提物对所选用的菌株则均没有抑菌及杀菌作用。因此确定淡豆豉抗菌有效部位为 80% 乙醇总提取物的乙酸乙酯萃取部分。该有效部分对呼吸道致病菌及其他常见致病菌有较强的抗菌活性。选用金黄色葡萄球菌对 Fr. 1 ~ Fr. 12 这 12 个组分进行活性追踪, 见表 3。结果表明 Fr. 1, Fr. 2, Fr. 5, Fr. 6, Fr. 7, Fr. 8, Fr. 9, Fr. 11 共 8 个部分抗菌活性相对较强。继续对以上 8 个抗菌活性较强的组分进行系统的化学成分分离。

表 1 各萃取部分的最小抑菌浓度

菌株	石油醚层	乙酸乙酯层	正丁醇层	阿奇霉素
柠檬色葡萄球菌	5.88	0.95	9.03	$1.6 \times 10^{-2}$
乙型副伤寒杆菌	2.94	0.95	9.03	$3.2 \times 10^{-2}$
金黄色葡萄球菌	5.88	0.95	9.03	$3.2 \times 10^{-2}$
大肠埃希菌	2.94	1.90	9.03	$1.6 \times 10^{-2}$
白色葡萄球菌	5.88	3.80	4.51	$3.2 \times 10^{-2}$
福氏痢疾杆菌	0.73	0.24	4.51	$3.2 \times 10^{-2}$
痢疾杆菌	2.94	0.95	9.30	$3.2 \times 10^{-2}$

注: 水层、水提物均没有抑菌作用(表 2 同)。

表 2 各萃取部分的最小杀菌浓度

菌株	石油醚层	乙酸乙酯层	正丁醇层	阿奇霉素
柠檬色葡萄球菌	11.75	3.80	9.03	$3.2 \times 10^{-2}$
乙型副伤寒杆菌	-	3.80	9.03	$1.3 \times 10^{-1}$
金黄色葡萄球菌	11.75	3.80	9.03	$1.3 \times 10^{-1}$
大肠埃希菌	11.75	3.80	9.03	$3.2 \times 10^{-2}$
白色葡萄球菌	-	7.60	4.51	$6.4 \times 10^{-2}$
福氏痢疾杆菌	-	3.80	4.51	$6.4 \times 10^{-2}$
痢疾杆菌	-	3.80	9.30	$6.4 \times 10^{-2}$

### 4 结构鉴定

化合物 **1** 白色针状结晶(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  255  $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ :

表 3 Fr. 1 ~ Fr. 12 的最小抑菌浓度及最小杀菌浓度

部位	MIC	MBC	部位	MIC	MBC
Fr. 1	1.75	7.00	Fr. 7	2.25	2.25
Fr. 2	1.44	5.75	Fr. 8	2.75	5.50
Fr. 3	3.00	6.00	Fr. 9	2.75	2.75
Fr. 4	4.00	8.00	Fr. 10	-	-
Fr. 5	2.50	5.00	Fr. 11	2.00	8.00
Fr. 6	1.50	3.00	Fr. 12	4.00	8.00

注: - 表示没有抑菌及杀菌作用。

8.30 (1H, s, H-2), 7.97 (1H, d,  $J = 8.8 \text{ Hz}$ , H-5), 6.94 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.2 \text{ Hz}$ , H-6), 6.86 (1H, d,  $J = 2.2 \text{ Hz}$ , H-8), 7.38 (2H, d,  $J = 8.8 \text{ Hz}$ , H-2', 6'), 6.81 (2H, d,  $J = 8.8 \text{ Hz}$ , H-3', 5'), 10.80 (1H, s, 7-OH), 9.55 (1H, s, 4'-OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 152.8 (C-2), 123.4 (C-3), 174.6 (C-4), 127.3 (C-5), 115.1 (C-6), 162.5 (C-7), 102.1 (C-8), 157.4 (C-9), 116.6 (C-10), 122.5 (C-1'), 130.0 (C-2', 6'), 114.9 (C-3', 5'), 157.1 (C-4')。以上数据与文献[7]报道的大豆素数据一致, 故鉴定化合物 **1** 为大豆素 (daidzein), 即 4', 7-二羟基异黄酮 (4', 7-dihydroxyisoflavone)。

化合物 **2** 黄白色粉末(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  417  $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 8.19 (1H, s, H-2), 8.14 (1H, d,  $J = 8.8 \text{ Hz}$ , H-5), 7.21 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.4 \text{ Hz}$ , H-6), 7.24 (1H, d,  $J = 2.4 \text{ Hz}$ , H-8), 7.37 (2H, d,  $J = 8.8 \text{ Hz}$ , H-2', 6'), 6.84 (2H, d,  $J = 8.8 \text{ Hz}$ , H-3', 5'), 5.10 (1H, d,  $J = 7.2 \text{ Hz}$ , H-1''), 3.38 ~ 3.52 (4H, m, H-2'', 3'', 4'', 5''), 3.92 (1H, dd,  $J = 12.0, 2.0 \text{ Hz}$ , H-6''), 3.71 (1H, dd,  $J = 12.0, 6.0 \text{ Hz}$ , H-6'')。 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 155.1 (C-2), 126.3 (C-3), 178.1 (C-4), 128.3 (C-5), 117.1 (C-6), 163.5 (C-7), 105.0 (C-8), 159.3 (C-9), 120.3 (C-10), 124.1 (C-1'), 131.4 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 158.8 (C-4'), 101.9 (C-1''), 74.8 (C-2''), 77.9 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.5 (C-5''), 62.5 (C-6'')。以上数据与文献[7]报道的大豆苷数据一致, 故鉴定化合物 **2** 为大豆苷 (daidzin), 即 4', 7-二羟基异黄酮-7-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (4', 7-dihydroxyisoflavone-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)。

化合物 **3** 黄色针状结晶(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  271  $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 8.33 (1H, s, H-2), 6.23 (1H, s, H-6), 6.39 (1H, d,

$J = 1.2$  Hz, H-8), 7.38 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', 5'), 12.97 (1H, s, 5-OH), 10.91 (1H, s, 7-OH), 9.62 (1H, s, 4'-OH)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 154.2 (C-2), 122.5 (C-3), 180.4 (C-4), 162.2 (C-5), 99.2 (C-6), 164.5 (C-7), 93.8 (C-8), 157.6 (C-9), 104.6 (C-10), 121.4 (C-1'), 130.3 (C-2', 6'), 115.2 (C-3', 5'), 157.8 (C-4')。以上数据与文献[7]报道的染料木素数据一致,故鉴定化合物**3**为染料木素 (genistein),即4',5,7-三羟基异黄酮(4',5,7-trihydroxyisoflavone)。

化合物**4** 白色粉末(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  433  $[M + H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.44 (1H, s, H-2), 6.48 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-6), 6.73 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-8), 7.40 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-3', 5'), 5.07 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-1''), 3.14 ~ 3.73 (6H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''), 12.95 (1H, s, 5-OH), 9.63 (1H, s, 4'-OH), 5.44, 5.17, 5.10 (3H, 2'', 3'', 4''-OH), 4.63 (1H, t, 6''-OH)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 154.6 (C-2), 122.5 (C-3), 180.5 (C-4), 161.6 (C-5), 99.2 (C-6), 163.0 (C-7), 94.5 (C-8), 157.2 (C-9), 106.0 (C-10), 121.0 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 157.5 (C-4'), 99.8 (C-1''), 73.0 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.5 (C-4''), 77.2 (C-5''), 60.6 (C-6'')。以上数据与文献[7]报道的染料木苷数据一致,故鉴定化合物**4**为染料木苷 (genistin),即4',5,7-三羟基异黄酮-7-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(4',5,7-trihydroxyisoflavone-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyran-oxide)。

化合物**5** 白色粉末(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  285  $[M + H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.28 (1H, s, H-2), 7.43 (1H, s, H-5), 6.94 (1H, s, H-8), 7.39 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', 5'), 3.88 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 10.55 (1H, s, 7-OH), 9.52 (1H, s, 4'-OH)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 153.1 (C-2), 123.1 (C-3), 174.5 (C-4), 104.9 (C-5), 147.1 (C-6), 152.7 (C-7), 103.0 (C-8), 151.9 (C-9), 116.4 (C-10), 123.0 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 157.3 (C-4'), 56.0 (6-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[7]报道的黄豆黄素数据一致,故鉴定化合物**5**为黄豆黄素 (glycitein),即4',7-二羟基-6-甲氧基异黄酮(4',7-dihydroxy-6-methoxyisoflavone)。

化合物**6** 白色粉末(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  447

$[M + H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR ((400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.38 (1H, s, H-2), 7.48 (1H, s, H-5), 7.33 (1H, s, H-8), 7.41 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-3', 5'), 3.88 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 5.17 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 3.16 ~ 3.72 (6H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6'')。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 153.2 (C-2), 123.3 (C-3), 174.6 (C-4), 105.0 (C-5), 147.7 (C-6), 151.7 (C-7), 103.6 (C-8), 151.4 (C-9), 118.0 (C-10), 122.8 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 115.2 (C-3', 5'), 157.4 (C-4'), 56.0 (6-OCH<sub>3</sub>), 99.8 (C-1''), 73.2 (C-2''), 77.0 (C-3''), 69.8 (C-4''), 77.4 (C-5''), 60.8 (C-6'')。以上数据与文献[8]报道的黄豆黄苷数据一致,故鉴定化合物**6**为黄豆黄苷 (glycitin),即4',7-二羟基-6-甲氧基异黄酮-7-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(4',7-dihydroxy-6-methoxy isoflavone-7-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside)。

化合物**7** 白色粉末(甲醇)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 5.33 (1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-6), 4.22 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-1'), 0.96 (3H, s, H-27), 0.90 (3H, d,  $J = 6.4$  Hz, H-21), 0.82 (3H, s, H-19), 0.80 (3H, s, H-29), 0.79 (3H, s, H-26), 0.65 (3H, s, H-18)。以上数据及碳谱数据与文献[9]报道的胡萝卜苷数据一致,与胡萝卜苷对照品进行共薄层检测,3种溶剂系统展开R<sub>f</sub>值均一致,显色完全相同,故鉴定化合物**7**为胡萝卜苷 (daucosterol)。

化合物**8** 黄色针状结晶(甲醇)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.61 (1H, br s, 1-NH), 11.02 (1H, br s, 3-NH), 7.26 (1H, s, H-6), 1.73 (3H, s, 5-CH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 151.5 (C-2), 164.9 (C-4), 107.6 (C-5), 137.7 (C-6), 11.8 (5-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[10]报道的胸腺嘧啶数据一致,故鉴定化合物**8**为胸腺嘧啶 (thymine)。

化合物**9** 白色粉末(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  136  $[M + H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 8.13 (1H, s, H-2), 12.73 (1H, br s, 7-NH), 8.11 (1H, s, H-8), 7.11 (2H, s, 6-NH<sub>2</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 152.6 (C-2), 151.4 (C-4), 117.7 (C-5), 155.5 (C-6), 139.5 (C-8)。以上数据与文献[11]报道的腺嘌呤数据一致,故鉴定化合物**9**为腺嘌呤 (adenine)。

化合物**10** 白色粉末(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  113  $[M + H]^+$ 。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10.85 (1H, s, 1-NH), 11.11 (1H, s, 3-NH), 5.46

(1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-5), 7.41 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-6)。 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 151.5 (C-2), 164.3 (C-4), 100.2 (C-5), 142.2 (C-6)。以上数据与文献[12]报道的尿嘧啶数据一致,故鉴定化合物 10 为尿嘧啶(uracil)。

化合物 11 黄白色粉末(甲醇)。ESI-MS  $m/z$  245 [M + H]<sup>+</sup>。 $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 11.27 (1H, br s, 3-NH), 5.63 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5), 7.88 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-6), 5.77 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-1'), 4.01 (1H, t,  $J = 5.3, 5.3$  Hz, H-2'), 3.96 (1H, t,  $J = 5.2, 5.2$  Hz, H-3'), 3.83 (1H, m, H-4'), 3.62 (1H, dd,  $J = 12.0, 3.1$  Hz, H-5'), 3.54 (1H, dd,  $J = 12.0, 3.1$  Hz, H-5')。 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$ : 150.8 (C-2), 163.3 (C-4), 101.7 (C-5), 140.7 (C-6), Rib: 87.7 (C-1'), 73.5 (C-2'), 69.8 (C-3'), 84.8 (C-4'), 60.9 (C-5')。以上数据与文献[13-14]报道的尿苷数据一致,故鉴定化合物 11 为尿苷(uridine)。

## 5 讨论

淡豆豉味苦、辛,性凉,为解表药,临床常用于治疗感冒、痢疾、恶疮等,这些病症皆易合并细菌感染,推测淡豆豉较强的抗菌活性与之有关。本研究采用抗菌实验筛选及追踪活性成分符合中医药理论及临床用药原则,

抗菌结果表明,淡豆豉 80% 乙醇提取物的各萃取部分中,乙酸乙酯层抗菌活性最强,正丁醇层及石油醚层次之,水层无抗菌活性。在本试验中,不同部分所配制的抗菌药液浓度相当,因水提物中以多糖、蛋白及氨基酸等水溶性成分为主,与萃取部分相比脂溶性成分含量较低,所配制的药液浓度未能达到抑菌效果,故未表现出抗菌活性。

文献报道,异黄酮类成分具有抗菌活性<sup>[15-16]</sup>。淡豆豉中含有丰富的异黄酮类成分,该类成分可能为淡豆豉的抗菌活性成分之一。

淡豆豉分离中可以得到较大质量的胡萝卜苷,此物质可能与文献报道的淡豆豉调节血脂及抗肿瘤等药理作用有关。与大豆相比,淡豆豉经发酵炮制后产生了丰富的嘧啶及嘌呤类物质。

## [参考文献]

- [1] 高学敏. 中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000:270.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:328.
- [3] 牛广财, 贾亭亭, 魏文毅, 等. 淡豆豉的研究进展[J]. 中国酿造, 2013, 32(9):1-5.
- [4] 朱海针, 龙凯, 梁永红, 等. Biolog 技术监测淡豆豉发酵炮制过程中微生物种类动态变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17):14-17.
- [5] 谭颖颖, 张琪. 淡豆豉提取物对乳腺癌细胞增殖的抑制作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 220-222.
- [6] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991:289-291.
- [7] 袁珊琴, 于能江, 赵毅民, 等. 淡豆豉中的化学成分[J]. 中药材, 2008, 31(8):1172-1174.
- [8] 徐德平, 丁绍东, 肖凯, 等. 大豆胚芽异黄酮的提取分离与结构鉴定[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 23(1): 53-55, 69.
- [9] 冯卫生. 中药化学成分结构解析[M]. 北京: 科学出版社, 2008:435-437.
- [10] 张起辉, 周莲娣, 闫小玉, 等. 海洋真菌 *Nigrospora sphaerica* 化学成分的分离与鉴定(I)[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(5):350-353.
- [11] LI Y Y, CHOU G X, WANG Z T. Chemical constituents in *n*-butanol extract from the seeds of *Alpinia katsumadai* [J]. Chin J Nat Med, 2010, 7(6):417-420.
- [12] 王大海, 殷志琦, 张庆文, 等. 广藿香非挥发性化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2704-2707.
- [13] 霍长虹, 赵玉英, 梁鸿, 等. 老鼠簕化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10):763-765.
- [14] 雷雨, 吴立军, 毕丹, 等. 野独活茎化学成分的分析与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(2):104-107.
- [15] 王天晓, 尹震花, 张伟, 等. 补骨脂抗氧化、抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和抗菌活性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(14):2328-2333.
- [16] 李晶, 孔维松, 刘欣, 等. 大马士革玫瑰中 1 个异黄酮类化合物及其抗菌活性研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(2):332-335.

[责任编辑 顾雪竹]