

# 白屈菜红碱的分离提取及生物学活性研究进展

邱东旭, 李晓岩, 赵敏\*

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040

**摘要:** 白屈菜为罂粟科白屈菜属植物, 是一种有着很高开发前景的新型药用植物。白屈菜中的主要活性成分为白屈菜红碱, 白屈菜红碱是一种苯并菲啶型生物碱, 具有抗炎、抗菌等生物学活性。白屈菜红碱的分离提取方法很多, 本论文介绍了微芯片电泳分离法、微波辅助萃取法、大孔吸附树脂等三种高效、省时的提取方法在白屈菜红碱分离提取中的应用。另外, 本文还阐述了白屈菜红碱抗炎, 抗菌, 抗肿瘤和对胃溃疡保护的作用机理。本文将为以白屈菜红碱为先导物的生物活性物质的开发提供理论依据。

**关键词:** 白屈菜红碱; 生物学活性; 作用机理

中图分类号: R284

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.S.039

## Review on Extraction and Biological Activities of Chelerythrine

QIU Dong-xu, LI Xiao-yan, ZHAO Min\*

College of Life Science, Northeast Forest University, Harbin, 150040, China

**Abstract:** *Chelidonium majus* is a kind of very high prospects for the development of new medicinal plants. The main active ingredient of *Chelidonium majus* is chelerythrine. Chelerythrine is a benzo phenanthridine alkaloids and has anti-inflammatory, antimicrobial and other biological activity. There were many methods to extract chelerythrine, this paper introduces three time-saving extraction methods for chelerythrine extraction such as micro-chip electrophoresis separation, microwave assisted extraction and macroporous adsorption resin. In addition, this paper describes the mechanism of chelerythrine in anti-inflammatory, antibacterial, antitumor and protective effect on gastric ulcer. This paper will provide a theoretical basis for the development of chelerythrine as bioactive substances.

**Key words:** chelerythrine; biological activity; mechanisms

### 1 白屈菜

白屈菜 (*Chelidonium majus* L.) 为罂粟科白屈菜属下的一个种, 为多年生草本, 味苦, 性凉。主根圆锥状, 土黄色。茎直立, 高 30 ~ 100 cm, 多分枝, 有白粉, 疏生白色细长柔毛, 断之有黄色乳汁<sup>[1]</sup>。主根粗壮, 圆锥形, 土黄色或暗褐色, 密生须根。生于山坡、山谷林边草地, 全国有分布, 主产东北、华北<sup>[2]</sup>。白屈菜是一种重要的中草药, 全草入药有镇病、止咳、利尿、消炎、解毒等功效, 同时还有抗肿瘤、降血压的作用<sup>[3-5]</sup>。别名: 地黄连、牛金花、土黄连、八步紧、断肠草、山西瓜、雄黄草等<sup>[6]</sup>。其主要的活性成分为多种生物碱, 包括白屈菜碱、血根碱、白屈菜红碱、黄连碱、小檗碱等。

### 2 白屈菜红碱

白屈菜红碱 (chelerythrine, CHE), 又名白屈菜赤碱、白屈菜季铵碱是从白屈菜、博落回、血水草等植物中分离的异喹啉类的苯并菲啶型生物碱。其化学名为 1,2-dimethoxy-N-methyl[13]-benzodioxolo[5,6-c]phenanthridinium, 化学分子式为  $C_{21}H_{18}NO_4^+$ , 相对分子质量 348.37, CHE 呈黄色针晶状, 熔点 195 ~ 205 °C, 可溶于氯仿、甲醇, 易溶于乙醇等<sup>[7]</sup>。CHE 的药理活性有很多, 经过大量的实验, 其抗肿瘤<sup>[8,9]</sup>、抗炎<sup>[10]</sup>、抗菌<sup>[11]</sup>的作用已被很多人了解, 但 CHE 还有很多价值没有被大多数人发现, 例如杀虫<sup>[12,13]</sup>、对肝功能影响<sup>[14,15]</sup>、对心血管作用<sup>[16]</sup>等。

### 3 白屈菜红碱的分离方法

白屈菜红碱的分离提取方法很多, 例如: 搅拌萃取、超声波萃取<sup>[17]</sup>、层析法等, 还有人利用高效液相色谱法<sup>[18-20]</sup>分离并测定博落回这种药材中不同器

官白屈菜红碱的含量,但随着科技的进步和研究技术的成熟还有其它高效的新方法:

### 3.1 微芯片电泳分离法

有报道称在药用植物中利用微芯片电泳法分离白屈菜红碱和血根碱<sup>[21]</sup>,在实验过程中微芯片都用的无涂层玻璃芯片,电渗是分离和注射的动力。微芯片电泳分离技术有很多优势,分离速度快,多步骤工艺易集成,样品和试剂的成本低。白屈菜红碱和血根碱是白屈菜中两种主要的生物碱,在过去用高效液相色谱法分离这两种生物碱,但样品制备步骤繁琐,溶剂消耗多,消耗时间长。后来改进变成了超高效液相色谱法,虽然运行时间缩短,但是样品制备还是很繁琐。相比于这两种方法微芯片电泳分离技术的优势就更能吸引研究人员的目光。

### 3.2 微波辅助萃取法

将样品和盐酸水溶液混合在一起,放入 Teflon 容器内,盖上盖子,放入微波炉在一定功率下,进行 5 min 的提取,然后将提取液通过特定滤膜进行色谱分析。并且,经过与浸渍法、超声波辅助分离法、渗滤法的对比后,发现浸渍法与微波辅助萃取法在提取效率上相近比其它两种方法都高,但微波辅助萃取法所需时间却很短,只需要 5 min,浸渍法要 30 min。所以,微波辅助萃取法对于白屈菜红碱的萃取更适合<sup>[22]</sup>。

### 3.3 大孔吸附树脂分离纯化

Fan<sup>[23]</sup>等人利用大孔树脂对白屈菜红碱进行分离纯化。首先是白屈菜红碱的粗提取液,利用超声波提取方法提取,然后是大孔树脂的筛选,第一步静态吸附,准备预处理好的树脂加入白屈菜红碱粗提取液,30 ℃、110 rpm 恒温振荡 2 h,静置 24 h 后过滤,得液体样品,测定吸附后滤液浓度。第二步是静态解吸,将吸附饱和的树脂用去离子水洗去树脂表面未被吸附的样液,加入乙醇溶液,30 ℃、110 rpm 恒温振荡 2 h,静置 24 h 后过滤,得液体样品,测定吸附后滤液浓度。根据公式算出各种树脂对白屈菜红碱的吸附量、吸附率、解吸率等,找出最优的树脂,最后用选好的树脂在最合适的条件下进行上柱、吸附、洗脱、流出液的收集,得到相对纯度高的白屈菜红碱提取液。树脂的理化性质很稳定,不溶于酸、碱以及有机溶剂,不会受到无机盐类和低分子化合物的影响。大孔树脂分离技术是近几年发展起来的新型分离技术,虽然起步晚,但发展迅速,可以用于很多生物碱的分离纯化。

## 4 白屈菜红碱的生物学活性

### 4.1 抗炎作用

许多实验都已证明白屈菜红碱(CHE)具有抗炎的作用,Niu 等人<sup>[24]</sup>证明白屈菜红碱具有抗炎和抗伤害活动的作用是通过抑制了前列腺素 E2 的释放,前列腺素 E2(PGE2)是由环氧酶 2(COX-2)调节的一种在炎症反应中很重要的酶。他们在小鼠的体内和体外进行了炎症测试,(一)二甲苯致小鼠耳肿胀,甲醛致足肿胀和醋酸致小鼠扭体分别为由 CHE 显著下降;(二)CHE 对于水肿渗出液中 PGE2 的产生有明显的抑制;(三)我们还观察到抑制 PGE2 的产生会影响 LPS 和 COX-2 蛋白在小鼠腹腔巨噬细胞表达。所有这些结果清楚地表明,CHE 是一种有效的炎症抑制剂,这一发现,最终将使 CHE 可能用于抑制 PGE 2 的表达,对各种炎症的治疗是有益的。Li 等人<sup>[25]</sup>为了深入了解白屈菜红碱的抗炎作用和抗炎基本的分子机制,他们利用实验诱发小鼠内毒素休克模型和由 LPS 激活的小鼠腹腔巨噬细胞做了实验检查 CHE 的消炎作用。经过实验证明,CHE 的消炎作用是通过抑制了 LPS 诱导的肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和 NO 的产生,同时实验可以表明 CHE 抗炎的潜在分子机制是在小鼠腹腔巨噬细胞中通过抑制了 MAPK 的磷酸化水平进而抑制了肿瘤坏死因子- $\alpha$ 和 NO 的产生。以上的两个实验都是 CHE 可以抗炎和止痛的有力证据,对于炎症的治疗带来新的途径。周重楚<sup>[26]</sup>经过实验发现 CHE 可以抑制大鼠角叉菜胶足趾肿胀同时皮下给药比灌胃给药作用明显。溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性非特异性炎症,研究显示,结肠炎症因子 iNOS 可以诱导产生大量的 NO,是 UC 中一种重要的促炎因子;UC 患者病变黏膜中 NO 浓度的增加与炎症程度是有关系的<sup>[27]</sup>。TNF- $\alpha$  同样是目前公认的能介导 UC 发病的促炎细胞因子,它由单核巨噬细胞产生,可促使中性粒细胞进入肠道病变部位,从而引起一系列的病理变化导致 UC 的产生<sup>[28,29]</sup>。徐香琴<sup>[30]</sup>等人研究发现 CHE 可以减轻 UC 小鼠结肠炎症,同时结肠组织与血清中的 NO, TNF- $\alpha$  的含量下降,表明 CHE 可以减轻肠黏膜的炎症程度与其下调结肠黏膜的 TNF- $\alpha$  与 iNOS 蛋白表达有关。

### 4.2 抗菌作用

在最近几十年,自然植物防护剂吸引了大量的

研究者,由于它们对环境和哺乳动物毒性低,大量的实验证明白屈菜红碱具有抗真菌,抗细菌作用。Miao 等人<sup>[31]</sup>通过对白屈菜红碱的结构进行修饰,测试了各种修饰后的白屈菜红碱的抗菌效果,发现白屈菜红碱分子结构中对于抗菌活性其决定性作用的是亚胺离子的结合,同时发现白屈菜红碱对于大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和嗜水气单胞菌均具有较好的抑菌效果。Yang 等人<sup>[32]</sup>为了探究白屈菜红碱结构与抗真菌活性之间的关系,他们选取了几种白屈菜红碱的衍生物在体外对 7 种植物病原真菌进行了抗真菌测试,实验结果表明 CHE 的 6-烷氧基二氢的衍生物 C1-C4 和 6-氰基二氢衍的生物 C5 对测试真菌均有显著的抗真菌活性,这也说明亚胺离子结合部分是 CHE 抗真菌活性的决定因素。郑峰<sup>[33]</sup>等人研究白屈菜红碱和血根碱及其衍生物的抑菌活性,他们用了 16 种化合物,对 11 种植物病原菌做了抑菌活性的实验,其中白屈菜红碱对苹果腐烂病菌,棉花枯萎病菌和马铃薯干腐病菌的抑制率有 80% 以上。同时,对比血根碱和白屈菜红碱,白屈菜红碱的抑菌活性要高于血根碱,差异最明显的是苹果炭疽病原菌,白屈菜红碱的抑制率为 62.4%,而血根碱的抑制率只有 34.5%。龋齿是人类常见的口腔疾病,而变形链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)是龋齿的主要致病菌之一。徐冬雪<sup>[34]</sup>经过实验发现当 CHE 溶液浓度为 1.56 mg/mL 时,在扫描电镜下细菌胞体间的黏附稀疏,黏附层薄,甚至部分区域无黏附,即表明 CHE 可以抑制 *S. mutans* 对玻璃表面的黏附作用及细菌之间的相互黏附作用。同时在高倍镜下细菌胞体大多呈胶囊状,两端不对称且形态不规则,分裂后的细菌链局部会出现断裂现象。透射电镜实验表明 CHE 是通过抑制变形链球菌的细胞分裂从而抑制其生长,并且对荚膜、细胞膜、细胞壁等结构产生影响,使其完整性受到破坏。

### 4.3 抗癌作用

白屈菜红碱可以抑制人类多种癌细胞的增殖,也有很多相关的报道。Chmura<sup>[35]</sup>等通过体外实验证实 CHE 对 MCF-7、SQ20B、HT29、DaOY、SCC35、SCC61、MCF7ADR、JSQ3 和 LnCap 这 9 种肿瘤细胞均有明显的细胞毒性,所以有抑制肿瘤生长的作用。Malikova<sup>[36]</sup>等人经过实验后认为,CHE 对人类的前列腺癌细胞系和人牙龈成纤维细胞具有显著的细胞毒性和敏感性。因为 CHE 参与细胞凋亡和细胞周期的调控,在未来前列腺癌的治疗中,CHE 将会有

很大的发展空间。

目前,许多研究发现,CHE 诱导细胞凋亡有许多途径和机制。Smita<sup>[37]</sup>等人认为 CHE 可以产生大量的活性氧,特别是过氧化氢,过氧化氢可以消耗掉细胞的抗氧化物并且发出一种快速施行细胞凋亡的信号。同时,一些氧化还原酶致力于细胞死亡,这种酶的产生是由于白屈菜红碱进入细胞后被还原产生的。经过研究发现白屈菜红碱很容易被 NADH 还原,在产物中,有一种主要的产物是阴离子在以前没有报道过,并且比无电荷的两个氢原子形式稳定。很多证据表明经过血根碱或者白屈菜红碱处理后细胞的迅速凋亡是由  $H_2O_2$  导致的。少量的  $H_2O_2$  的增加有助于细胞的增殖,然而过多的  $H_2O_2$  将诱导细胞凋亡。而且,经过实验后认为大量过氧化氢的产生是由于 CHE 经过还原与氧化的重复循环。Takeshi<sup>[38]</sup>等人经过实验后也认为活性氧(ROS)的产生是白屈菜红碱诱导细胞凋亡的关键因素。

蛋白激酶 C(PKC)涉及细胞增殖,分化和存活的调节。在药理上抑制 PKC 活性可以触发大多数哺乳动物细胞细胞凋亡,Herbert<sup>[39]</sup>认为白屈菜红碱与蛋白激酶 C(PKC)的催化结构域相互作用,相对于磷酸盐受体是竞争性抑制剂。Steven<sup>[35]</sup>等人经过实验发现 CHE 是一种 PKC 抑制剂,并且对 9 种人类肿瘤细胞经过体外测试都具有细胞毒性,头颈部鳞癌细胞在体外经过 CHE 的治疗后迅速凋亡,并且将人类头颈部癌细胞移植到裸鼠体内,CHE 也可以抑制其生长。

CHE 在之前的研究中认为可以抑制抗凋亡 Bcl-2 家族蛋白<sup>[40]</sup>,但最近的研究表明白屈菜红碱可以诱导线粒体膜电位(DWM)的损失,膜通透性转换(MPT)随后激活线粒体凋亡,从而诱导细胞凋亡。

### 4.4 对胃溃疡的保护作用

Li<sup>[41]</sup>等人研究发现 CHE 对于乙醇引起的胃溃疡有一定的保护作用,经实验证明 CHE 具有很明显的保护胃粘膜的作用,抵御酒精引起的损伤。在由酒精引导的胃粘膜溃疡中,他们观察到很多黏膜的损伤都伴有 NO 的急性增加。在最近的研究中发现用 CHE 预处理可以显著降低 NO 的含量在胃黏膜中。同样的,过氧化物酶(MPO)活性也会因为酒精进了胃里而增加,CHE 则会降低其在胃中含量。

## 5 展望

白屈菜红碱来源于天然植物,经过最近几年的

研究发现其重要的医学作用,尤其是在抗炎、抗癌、抗菌的方面。白屈菜在我国分布很广,资源丰富,我们需要多多努力,对其要有更深入的研究,为更广泛的临床应用提供科学的实验依据。

#### 参考文献

- Bai B(白冰), *et al.* Recent progress of *Chelidonium majus*. *Heilongjiang Med J* (黑龙江医学), 2009, 22: 794.
- Fan HY(范海延), *et al.* Extraction and anti-microbial activity of chelerythrine from *Chelidonium majus*. *Food Sci* (食品科学), 2009, 30: 126-129.
- He ZM(何志敏), *et al.* 白屈菜碱镇痛作用研究. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34: 837-838.
- Kokoska L, *et al.* Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol*, 2002, 82 (1): 51-53.
- Tjem M, *et al.* Effect of samplehandling on alkaloid and mineral content of aqueous extracts of greater celandine (*Chelidonium majus* L.). *J Chromatogr A*, 2000, 889(1/2): 69-74.
- Cai YT(才玉婷), *et al.* Advance in studies on pharmacological effects of *Chelidonium majus* L. *J Mudanjiang Med Univ* (牡丹江医学院学报), 2012, 33(2): 57-60.
- Wang PQ(王培卿), *et al.* Advance in studies on pharmacological activities of chelerythrine. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2013, 38: 2745-2749.
- Colombo ML, *et al.* Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae). *Pharmacol Res*, 1996, 33: 127-134.
- Chan SL, *et al.* Identification of chelerythrine as an inhibitor of BclXL function. *J Biol Chem*, 2003, 278: 20453-20456.
- Lenfeld J, *et al.* Antiinflammatory activity of quaternary benzophenanthridine alkaloids from *Chelidonium majus*. *Planta Med*, 1981, 43: 161-165.
- Kang WS(康伟松), *et al.* *In vitro* antibacterial activity of sanguinarine and chelerythrine ion-pair compounds. *Central South Pharm* (中南药学), 2014, 5: 406-410.
- Feng G(冯岗), *et al.* Isolation and identification of insecticidal composition of *Macleaya microcarpa*. *Acta Botan Boreali-Occident Sin* (西北植物学报), 2008, 28: 179.
- Hu HJ(胡海军). Relationships between structure and antibacterial and acaricidal activity of sanguinarine and chelerythrine. Yangling: Northwest A&F University(西北农林科技大学), MSc. 2008.
- Mitra S, *et al.* Effect of *Chelidonium majus* L. on experimental hepatic tissue injury. *Phytother Res*, 1996, 10: 354-356.
- Wang YH(汪煜华), *et al.* Effects of chelerythrine on the serum ALT and HA level of hepatic fibrosis in rats. *J Univ South China, Med Ed* (南华大学学报:医学版), 2010, 3: 325-327.
- Zhang WB(张文斌), *et al.* The effect of chelerythrine on the hypertrophy of cardiac myocytes of neonatal rats induced by different glucose levels and its mechanism. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2009, 44: 115-120.
- Wei QH(韦庆慧), *et al.* Extraction technology and content changes of chelerythrine from *Chelidonium majus*. *J Beijing Forest Univ* (北京林业大学学报), 2013, 35(2): 86-91.
- Li XM(李晓蒙), *et al.* Determination of chelerythrine in different parts of *Macleaya cordata* by HPLC. *Subtropical Plant Sci* (亚热带植物科学), 2008, 37(2): 41-43.
- Han LF, *et al.* Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of tertiary and quaternary alkaloids from *Chelidonium majus* L. *J Chromatogr A*, 1991, 543: 123-128.
- Sárközi Á, *et al.* Alkaloid composition of *Chelidonium majus* L. studied by different chromatographic techniques. *Chromatographia*, 2006, 63(13): 81-86.
- Sun Y, *et al.* Microchip electrophoretic separation and fluorescence detection of chelerythrine and sanguinarine in medicinal Plants. *Talanta*, 2015, 142: 90-96.
- Zhang F, *et al.* Optimization and comparison of different extraction techniques for sanguinarine and chelerythrine in fruits of *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. *Sep Purif Technol*, 2005, 42: 283-290.
- Fan HY, *et al.* Isolation and purification of chelerythrine and its anti-fungal activity. *Hubei Agric Sci*, 2010, 49: 679-682.
- Niu XF, *et al.* Effects of chelerythrine, a specific inhibitor of cyclooxygenase-2, on acute inflammation in mice. *Fitoterapia*, 2011, 82: 620-625.
- Li W, *et al.* Effect of chelerythrine against endotoxic shock in mice and its modulation of inflammatory mediators in peritoneal macrophages through the modulation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway. *Inflammation*, 2012, 35: 1814-1824.
- Zhou CC(周重楚). Anti-inflammatory effects of benzophenanthridine alkaloids in *Chelidonium majus*. *Foreign Pharmacy: Botanical Volume* (国外药学:植物药分册), 1982, 5: 276.
- Jin HM(金惠铭). Pathophysiology(病理生理学). Beijing: People's Health Publishing House(人民卫生出版社), 2000: 150.
- Dieleman LA, *et al.* Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice. *Gastroenterology*, 1994, 107: 1643-1652.
- Tomoyose M, *et al.* Role of interleukin-10 in a murine model

- of dextran sulfate sodium-induced colitis. *Scand J Gastroenterol*, 1998, 33:435-440.
- 30 Xu XQ(徐香琴), *et al.* Effect of chelerythrine on ulcerative colitis in mice. *Chin J Exp Tradit Med Formul* (中国实验方剂学杂志), 2014, 20:171-174.
- 31 Miao F, *et al.* Structural modification of sanguinarine and chelerythrine and their antibacterial activity. *Nat Prod Res*, 2011, 25:863-875.
- 32 Yang XJ, *et al.* *In vitro* antifungal activity of sanguinarine and chelerythrine derivatives against phytopathogenic fungi. *Molecules*, 2012, 17:13026-13035.
- 33 Zheng F(郑峰). Antifungal and acaricidal activities of sanguinarine and chelerythrine and their derivatives. Northwest A&F University(西北农林科技大学), MSc. 2011.
- 34 Xu DX(徐冬雪). Electron microscope investigation of morphologic effect of chelerythrine on *Streptococcus mutans*. China Medical University(中国医科大学), MSc. 2010.
- 35 Chmura SJ, *et al.* *In vitro* and *in vivo* activity of protein kinase C inhibitor chelerythrine chloride induces tumor cell toxicity and growth delay *in vivo*. *Clin Cancer Res*, 2000, 6:737-742.
- 36 Malíková J, *et al.* The effect of chelerythrine on cell growth, apoptosis, and cell cycle in human normal and cancer cells in comparison with sanguinarine. *Cell Biol Toxicol*, 2006, 22:439-453.
- 37 Matkar SS, *et al.* Production of hydrogen peroxide and redox cycling can explain how sanguinarine and chelerythrine induce rapid apoptosis. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 477(1):43-52.
- 38 Funakoshi T, *et al.* Reactive oxygen species-independent rapid initiation of mitochondrial apoptotic pathway by chelerythrine. *Toxicol In Vitro*, 2011, 25:1581-1587.
- 39 Herbert JM, *et al.* Chelerythrine is a potent and specific inhibitor of protein kinase C. *Biochem Bioph Res Co*, 1990, 172:993-999.
- 40 Zhang ZF, *et al.* Induction of apoptosis by chelerythrine chloride through mitochondrial pathway and Bcl-2family proteins in human hepatoma SMMC-7721 cell. *Arch Pharm Res*, 2011, 34:791-800.
- 41 Li WF, *et al.* Protective effect of chelerythrine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Chem-Biol Interact*, 2013, 208(1):18-27.