

大花地不容生物碱成分研究

谷英姿,袁艺洋,魏文萱,席嘉禾,熊慧,杨光忠*

(中南民族大学 药学院,武汉 430074)

摘要 采用正、反相硅胶柱层析、半制备 HPLC 等各种色谱技术,对大花地不容(*Stephania macrantha*)总生物碱进行分离纯化,得到6个生物碱,其结构分别通过各种 1D、2D NMR 技术、高分辨质谱、圆二色谱、量子化学计算以及酸水解的方法来确定。6个生物碱分别鉴定为 isothebaine-1-O- β -D-glucopyranoside (1)、异紫堇定(2)、斯蒂芬灵碱(3)、乌药碱(4)、瑞枯灵(5)和青风藤碱(6),其中化合物 1 为新的生物碱糖苷。通过 CCK-8 方法评价了所分离的生物碱对四种肿瘤细胞(人肝癌细胞、人非小细胞肺癌细胞、人咽鳞癌细胞和人胃癌细胞)的抗增殖活性,结果表明异紫堇定(2)对人胃癌细胞生长有明显抑制作用,其 IC_{50} 的值为 17.02 μ M。

关键词 千金藤属;大花地不容;生物碱;抗增殖活性

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1672-4321(2026)02-0174-06

doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20250836

Alkaloids from *Stephania macrantha*

GU Yingzi, YUAN Yiyang, WEI Wenxuan, XI Jiahe, XIONG Hui, YANG Guangzhong*

(School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China)

Abstract Various chromatographic techniques, including normal and reversed-phase silica gel column chromatography as well as semi-preparative HPLC, were employed to separate and purify the total alkaloids from *Stephania macrantha*, resulting in the isolation of six alkaloids. Their structures were elucidated using a combination of 1D and 2D NMR techniques, high-resolution mass spectrometry, circular dichroism spectroscopy, quantum chemical calculations, and acid hydrolysis methods. The six alkaloids were identified as isothebaine-1-O- β -D-glucopyranoside (1), isocorydine (2), stepharine (3), coclaurine (4), reticuline (5), and coclaurine (6), with compound 1 being a novel alkaloid glycoside. The anti-proliferative activity of the isolated alkaloids against four tumor cell lines (Hep G2, A549, FaDu, HGC-27) was assessed using the CCK-8 method. The results demonstrated that isocorydine (2) exhibited significant inhibitory effects on the growth of HGC-27 tumor cells, with IC_{50} values of 17.02 μ M.

Keywords *Stephania*; *Stephania macrantha*; alkaloids; anti-proliferative activity

大花地不容(*Stephania macrantha* Lo et M. Yang), 隶属防己科(Menispermaceae)千金藤属(*Stephania*), 其块根作为“地不容”入药,《滇南本草》记载地不容味苦、性温且具毒性,能疗诸般疟疾。大花地不容的主要有效成分为生物碱,并以异喹啉类生物碱为主,涵盖苜蓿基四氢异喹啉型、阿朴啡型、青藤碱型、小檗碱型以及原小檗碱型等多种类型^[1-3]。前期文献报道大花地不容块根的总生物碱和青藤碱都有抑制人非小细胞肺

癌细胞 A549 生长的活性^[3]。此外,该植物中部分已知生物碱如异紫堇定^[4-5]、荷包牡丹碱^[6-8]和延胡索乙素^[9]均被报道对多种肿瘤细胞有抗增殖的活性。大花地不容作为有潜在抗肿瘤活性的药用植物极具开发价值,但目前对其化学成分和相关药理活性报道较少,为进一步发现大花地不容中新颖的生物碱,促进该药用植物资源的开发,对大花地不容生物碱及其抗增殖活性进行了研究。通过正、反相硅胶柱层析,半制备

收稿日期 2024-12-23

* 通信作者 杨光忠(1968-),男,教授,博士,研究方向:天然药物化学,E-mail: yanggz888@126.com

基金项目 国家重点研发项目(2022YFC3502200)

HPLC及重结晶等方法从大花地不容中分离与鉴定了6种生物碱(图1),其结构分别为 isothebaine-1-O- β -D-glucopyranoside(1)、异紫堇定(2)、斯蒂芬灵碱(3)、乌

药碱(4)、瑞枯灵(5)和青风藤碱(6),其中化合物1为新的生物碱糖苷.体外抗增殖活性研究表明化合物2对HGC-27细胞有明显抑制作用,IC₅₀为17.02 μ M.

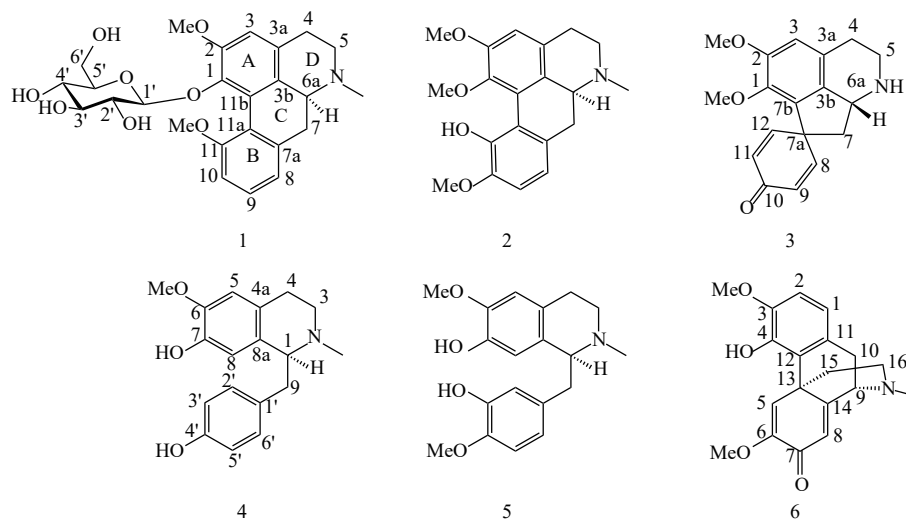


图1 化合物1-6结构式

Fig. 1 Structures of compounds 1-6

1 仪器与材料

核磁共振波谱仪(AM-500, 600型,德国Bruker),半制备型高效液相色谱仪(武汉睿和),紫外分析仪(ZF1-II型,上海嘉鹏),紫外可见分光光度计(UH5300型,日本日立),全自动数字旋光仪(AutopolIV-T型,美国鲁道夫),圆二色谱仪(Chirascan Plus型,英国应用光物理公司),高分辨质谱仪(Q Exactive型,美国赛默飞),旋转蒸发器(RE2000A型,上海亚荣),循环水式真空泵(SHB-D(III)型,上海贝茵),二氧化碳培养箱(MCP-170H型,安徽中科都菱),洁净工作台(SW-CJ-2FDG型,苏州安泰),低速离心机(DM0412型,大龙兴创公司),数显二孔恒温水浴锅(HH-S2型,常州市金坛大地自动化仪器厂),显微镜(ASV0870-HK830型,深圳奥斯).半制备型色谱柱YMC-Pack ODS-A(250 mm \times 10 mm, 5 μ m)、ODS硅胶50 μ m(日本YMC公司),正相硅胶200-300目、薄层硅胶板G板(青岛海洋化工厂),无水乙醇、乙酸乙酯、二乙胺(上海泰坦),盐酸、氢氧化钠、三乙胺(国药集团),色谱纯乙腈(湖北弗顿),人非小细胞肺癌细胞A549、人肝癌细胞Hep G2、人胃癌细胞HGC-27、人咽鳞癌细胞FaDu、人咽鳞癌细胞专用培养基、人胃癌细胞专用培养基、肺癌人类肺泡基底上皮细胞专用培养基(武汉普诺赛),0.25%胰酶、磷酸盐缓冲液、MEM培

养基(美国赛默飞),胎牛血清(浙江天杭),青霉素-链霉素-两性霉素B添加剂(武汉塞维尔),二甲亚砜(北京索莱宝),CCK-8试剂盒(上海碧云天),顺铂、D-葡萄糖、L-葡萄糖、邻甲苯异硫氰酸酯(上海源叶),三氟乙酸、L-半胱氨酸甲酯盐酸盐(上海阿拉丁),吡啶(上海化学试剂公司).

大花地不容块根,2023年6月购自云南保山,经中南民族大学药学院刘新桥教授鉴定为防己科千金藤属植物大花地不容(*Stephania macrantha* Lo et M. Yang)的块根.

2 实验部分

2.1 提取与分离

将4.8 kg大花地不容块根粉碎,用30 L 80%乙醇浸泡24 h,抽滤,共重复三次,将滤液合并浓缩,得到浸膏0.81 kg.浸膏加2 L水溶解,用5%盐酸溶液调pH为3,用乙酸乙酯萃取4次,每次600 mL,取水层用5%氢氧化钠溶液调pH为10,此时大部分生物碱析出.抽滤,滤液用乙酸乙酯萃取4次,每次600 mL,将乙酸乙酯相与析出的生物碱合并浓缩,干燥后共得大花地不容总生物碱320 g.称取280 g生物碱进行正相柱层析(200-300目),以二氯甲烷-甲醇(50:1, 30:1, 10:1, 8:2, 7:3, 1:1)为洗脱剂进行梯度洗脱,将洗脱液浓缩,薄层色谱检测,以石油醚-乙酸乙酯-

二乙胺为展开剂,改良碘化铋钾溶液为显色剂,按照 TLC 检测结果,将洗脱液浓缩合并为 9 个组分(Fr. A- Fr. I)。将 Fr. H 和 Fr. I 合并得到的 8.68 g 生物碱进行反相 ODS 柱层析,以甲醇-水(1:9-1:0)为洗脱剂进行梯度洗脱, TLC 检测合并为 7 个组分(Fr. A- Fr. g)。将 Fr. c (2.24 g) 进行正相柱层析(200-300 目),以石油醚-二乙胺(15:1-0:1)为洗脱剂进行梯度洗脱, TLC 检测合并分为 10 个组分(Fr. c-1-Fr. c-10)。将 Fr. c-7 通过半制备 HPLC 的方法纯化(乙腈-水=25:75, 流速:3 mL/min)得到化合物 1 (2.1 mg, $t_R=25.2$ min)。将 Fr. c-4 通过半制备 HPLC 的方法纯化(乙腈-水=50:50, 流速:3 mL/min)得到化合物 5 (32.9 mg, $t_R=7.2$ min)。将 Fr. a (3.3 g) 进行正相柱层析(200-300 目),以石油醚-二乙胺(13:1-0:1)为洗脱剂进行梯度洗脱, TLC 检测合并为 21 个部分(Fr. a-1-Fr. a-21)。将 Fr. a-9 通过半制备 HPLC 的方法纯化(乙腈-水=25:75, 流速:3 mL/min)得到化合物 3 (4.8 mg, $t_R=20.6$ min)。将 Fr. a-12 通过半制备 HPLC 的方法纯化(乙腈-水=18:82, 流速:3 mL/min)得到和化合物 4 (5.0 mg, $t_R=12.6$ min)。从 Fr. B 和 Fr. F 分别通过甲醇重结晶,得到化合物 2 (6.24 g) 和 6 (399.05 mg)。

2.2 酸水解实验^[10]

取化合物 1 1.0 mg 溶于 2 mL CF_3COOH (4 mol/L) 溶液中,在 95 °C 水浴锅中反应 3 h,冷却至室温,用等体积(2 mL)的 CH_2Cl_2 萃取 3 次,将水层合并后浓缩即得水解后的样品。

以 D-葡萄糖和 L-葡萄糖为标准品,称取各标准品 1 mg,在标准品和水解样品中加入无水吡啶 0.5 mL 和 L-半胱氨酸甲酯盐酸盐 1.0 mg 于 60 °C 水浴锅中反应 1 h,反应液冷却后加入 5 μ L 邻甲苯异硫氰酸酯,于 60 °C 水浴锅中继续反应 1 h,将反应后的溶液冷却至室温,用 0.22 μ m 的微孔滤膜过滤,即得标准品溶液和水解样品溶液。

分别取标准品溶液和水解样品溶液各 5 μ L 经 HPLC (乙腈-水=25:75, 流速:0.8 mL/min, 检测波长为 250 nm, 分析柱为 YMC-Pack QDS-A 色谱柱 4.6 \times 250 mm, 粒径 5 μ m) 进行色谱分析。D-葡萄糖和 L-葡萄糖的衍生物的保留时间分别为 25.04 min 和 22.43 min, 水解样品衍生物的保留时间为 25.02 min, 因而确定葡萄糖的绝对构型为 D 型。

2.3 抗增殖活性测试

采用 CCK-8 法^[11]检测分离到的生物碱 1-6 对 HepG-2、A549、FaDu、HGC-27 的抗增殖活性。以化

合物 1-6 为实验组,以顺铂为阳性对照药,同时设置对照组(含细胞不含药物的等体积无血清培养基)和空白组(不含细胞和药物的等体积含 10% CCK-8 的培养基)。取对数生长期的细胞以 1×10^5 个/孔的密度接种于 96 孔板培养至细胞贴壁后给药,每孔加入浓度为 20 μ M 的受试化合物 100 μ L 于 37 °C、5% CO_2 的培养箱中继续培养 24 h,然后弃上清液,每孔加入 100 μ L 含 10% CCK-8 工作液的培养基,于 37 °C、5% CO_2 中继续培养 1 h,用酶标仪测定各孔在 450 nm 处的吸光度(A)值。重复实验 3 次,各组分别设定 3 个复孔。根据测得的 A 值计算抑制率。对抑制率达到 45% 及以上的化合物设置浓度梯度(0.3125、0.625、1.25、2.5、5、10、20、30 μ M),计算其相应的 IC_{50} 值。

$$\text{抑制率} = [(A_{\text{对照}} - A_{\text{实验}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})] \times 100\%$$

3 结果与分析

3.1 结构鉴定

化合物 1: 黄色无定形粉末,碘化铋钾显橘红色,推断该化合物可能为生物碱。HR-ESI-MS 显示其准分子离子峰为 m/z 474.2119 $[M+H]^+$ $C_{25}H_{32}NO_8$ 计算值:(474.2122),故推测化合物 1 的分子式为 $C_{25}H_{31}NO_8$, 不饱和度为 11。NMR 数据给出了一个葡萄糖端基质子的信号 [δ_H 4.32 (1H, d, $J=7.0$ Hz)] 和一组葡萄糖碳的信号 [δ_C 105.7 (d), 75.9 (d), 77.6 (d), 71.2 (d), 76.9 (d), 62.7 (t)], 推测该化合物可能含有一个葡萄糖。将化合物 1 进行酸水解,并对水解产物进行硫代氨基甲酰基噻唑烷衍生化反应。HPLC 分析表明酸水解产物的衍生物同 D-葡萄糖的衍生物有相同的保留时间,说明化合物 1 中含有 D-葡萄糖,结合端基质子的偶合常数 ($J=7.0$ Hz), 可以确定化合物 1 中所含的糖为 β -D 型葡萄糖。除去葡萄糖上的 NMR 信号外,化合物 1 的 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) 谱中显示有 1 个孤立的芳香质子信号 [δ_H 6.85 (1H, s)] 和 1 个 1, 2, 3-三取代的苯环信号 [δ_H 6.94 (1H, d, $J=7.0$ Hz), 6.98 (1H, d, $J=8.5$ Hz), 7.25 (1H, dd, $J=7.5, 8.5$ Hz)], 2 个甲氧基信号 [δ_H 3.89 (3H, s), 3.88 (3H, s)] 和 1 个连氮甲基信号 [δ_H 2.71 (3H, s)]。 ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) 和 DEPT 谱上的显示有 8 个 sp^2 杂化的非质子化的碳 [δ_C 158.8 (s), 153.0 (s), 143.4 (s), 138.2 (s), 129.3 (s), 128.9 (s), 127.7 (s), 123.4 (s)], 1 个连氮甲基 [δ_C 43.2 (q)], 2 个甲氧基

$[\delta_c 56.5(q), 56.2(q)]$, 4个 sp^2 杂化次甲基 $[\delta_c 111.9(d), 120.5(d), 129.7(d), 112.2(d)]$ 和 3个亚甲基 $[28.6(t), 53.9(t), 35.8(t)]$. 综合以上 NMR 的数据, 推测该化合物为阿朴啡型生物碱. 将化合物 1 苷元的 NMR 数据与异紫堇定的 NMR 数据^[11]进行比较, 发现两个化合物的 NMR 数据基本一致, 其结构主要差别在于 B 环上取代模式的不一样, 异紫堇定 B 环中出现一对苯环邻位偶合的质子 $[\delta_H 6.76(1H, dd, J=8.0, 1.0 Hz), 6.79(1H, d, J=8.0 Hz)]$, 而在化合物 1 中出现一组苯环的 1, 2, 3-三取代的信号, 结合 HMBC 图谱显示 H-8($\delta_H 6.94$)与 C-7($\delta_c 35.8$)相关, 确定了 B 环的取代模式为 1, 2, 3-三取代. HMBC 图谱显示 H-10($\delta_H 6.98$)与 C-11($\delta_c 158.8$)相关(图 2, 表 1), 甲氧基($\delta_H 3.88$)与 C-11($\delta_c 158.8$)相关, 表明 B 环上甲氧基

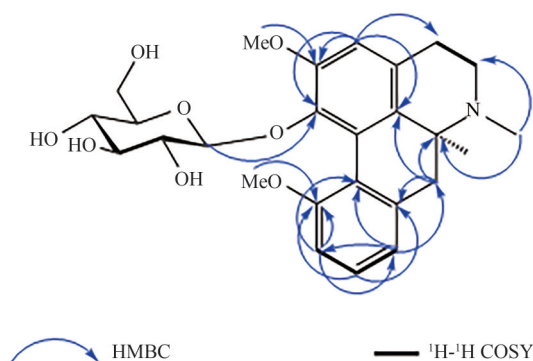


图 2 化合物 1 的主要 HMBC 和 1H - 1H COSY

Fig. 2 Key HMBC correlations and 1H - 1H COSY of compound 1

表 1 化合物 1 的 1H NMR、 ^{13}C NMR 和 HMBC 数据 (500 MHz, 125 MHz, CD_3OD)

Tab. 1 1H NMR, ^{13}C NMR and HMBC data of compound 1 (500 MHz, 125 MHz, CD_3OD)

编号	δ_H/ppm	δ_C/ppm	编号	δ_H/ppm	δ_C/ppm
1		143.4	11		158.8
2		153.0	11a		123.4
3	6.85(1H, s)	111.9	11b		128.9
3a		129.3	OCH ₃ -2	3.89(3H, s)	56.5
3b		127.7	OCH ₃ -11	3.88(3H, s)	56.2
4	2.84-2.88(2H, m)	28.6	-NCH ₃	2.71(3H, s)	43.2
5	3.28(2H, m)	53.9	1'	4.32(1H, d, 7.0)	105.7
6a	3.25(1H, m)	64.2	2'	3.27(1H, m)	77.6
7	2.48(1H, t, 13.0) 3.16(1H, m)	35.8	3'	3.27(1H, m)	75.9
7a		138.2	4'	3.06(1H, m)	71.2
8	6.94(1H, d, 7.0)	120.5	5'	2.78(1H, m)	76.9
9	7.25(1H, dd, 7.5, 8.5)	129.7	6'	3.26(1H, m)	62.7
10	6.98(1H, d, 8.5)	112.2		3.14(1H, m)	

连接在 C-11, 而 ROESY 图谱的 H-10($\delta_H 6.98$)与甲氧基($\delta_H 3.88$)相关也进一步证实了上述推断. ROESY 图谱上还显示 H-3($\delta_H 6.85$)与另一个甲氧基($\delta_H 3.89$)相关, 表明了这个甲氧基连接在 C-2 上, HMBC 图谱显示的葡萄糖上的端基质子 H-1'($\delta_H 4.32$)与 C-1($\delta_c 143.4$)相关, 说明葡萄糖通过苷键连接在 C-1 位. 通过密度泛函理论(DFT)对该化合物的 CD 图谱进行计算拟合, 结果如图 3 所示, 发现 S 构型的计算 ECD 光谱与实验 ECD 光谱一致, 表明该化合物的 C-6a 的绝对构型为 S.

化合物 2: 黄色棱晶, 碘化铍钾显橘红色. 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 6.70 (1H, s, H-3), 2.70 (1H, dd, $J=16.8, 3.6$ Hz, H-4), 3.20 (1H, m, H-4), 2.50 (1H, m, H-5), 3.05 (1H, dd, $J=13.2, 3.6$ Hz, H-

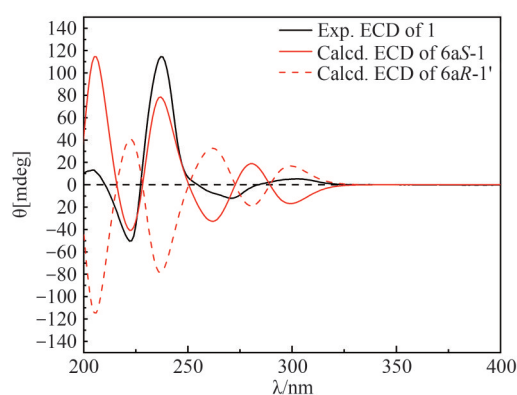


图 3 化合物 1 的实验和计算 ECD 图谱

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

5), 2.90(1H, m, H-6a), 2.47(1H, m, H-7), 3.05(1H, dd, $J=13.2, 3.6$ Hz, H-7), 6.82(1H, d, $J=7.8$ Hz, H-8), 6.85(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-9), 2.55(1H, s, N-CH₃), 8.83(1H, s, OH), 3.70(3H, s, OCH₃-1), 3.90(3H, s, OCH₃-2), 3.91(3H, s, OCH₃-10). ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ_c : 142.3(C-1), 151.5(C-2), 111.1(C-3), 129.1(C-3a), 130.1(C-3b), 29.3(C-4), 52.9(C-5), 63.0(C-6a), 35.9(C-7), 130.0(C-7a), 119.2(C-8), 111.2(C-9), 149.6(C-10), 144.1(C-11), 120.3(C-11a), 126.1(C-11b), 44.0(N-CH₃), 62.2(OCH₃-1), 56.0(OCH₃-2), 56.3(OCH₃-10). 以上 NMR 数据与文献报道^[12]的异紫堇定(isocorydine)一致,故鉴定该化合物为异紫堇定.

化合物 3: 红棕色无定形粉末, 碘化铋钾显橘红色. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H : 6.64(1H, s, H-3), 2.77(2H, m, H-4), 3.47(1H, m, H-5), 3.15(1H, m, H-5), 4.32(1H, dd, $J=10.5, 6.5$ Hz, H-6a), 2.40(1H, dd, $J=12.0, 6.5$ Hz, H-7), 2.28(1H, dd, $J=10.5, 10.5$ Hz, H-7), 6.90(1H, dd, $J=9.5, 2.5$ Hz, H-8), 6.42(1H, dd, $J=10.0, 2.0$ Hz, H-9), 6.30(1H, dd, $J=10.0, 2.0$ Hz, H-11), 7.02(1H, dd, $J=10.0, 3.0$ Hz, H-12), 3.81(3H, s, OCH₃-1), 3.51(3H, s, OCH₃-2). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_c : 153.5(C-1), 144.6(C-2), 112.3(C-3), 128.1(C-3a), 132.8(C-3b), 45.0(C-4), 48.1(C-5), 57.7(C-6a), 26.1(C-7), 51.3(C-7a), 134.7(C-7b), 149.9(C-8), 128.5(C-9), 186.5(C-10), 128.5(C-11), 149.9(C-12), 56.5(OCH₃-1), 61.2(OCH₃-2). 上述 NMR 数据与文献报道^[3]的斯帝酚灵碱(stepharine)一致,故鉴定该化合物为斯帝酚灵碱.

化合物 4: 黄色无定形粉末, 碘化铋钾显橘红色. ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ_H : 4.08(1H, m, H-1), 3.21(1H, m, H-3), 3.14(1H, m, H-3), 2.78(1H, m, H-4), 2.74(1H, m, H-4), 6.68(1H, s, H-5), 6.66(1H, s, H-8), 2.86(1H, m, H-9), 2.81(1H, m, H-9), 7.09(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-2'), 6.77(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-3'), 6.77(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 7.09(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-6'), 3.82(3H, s, OCH₃-6). ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ_c : 58.0(C-1), 41.4(C-3), 29.1(C-4), 126.4(C-4a), 116.5(C-5), 148.0(C-6), 145.8(C-7), 112.8(C-8), 130.5(C-8a), 41.9(C-9), 130.5(C-1'), 131.4(C-2'), 114.1(C-3'), 157.4(C-4'), 116.5(C-5'), 131.4(C-6'), 56.3(OCH₃-6). 上述 NMR 数据与文献报道的乌药碱^[13](coclaurine)一致,故鉴定该化合物为乌药碱.

化合物 5: 棕色油状物, 碘化铋钾显橘红色. ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ_H : 3.66(1H, t, $J=6.0$ Hz, H-1), 2.71-2.83(1H, m, H-3), 3.16(1H, ddd, $J=4.5, 8.5, 13.5$ Hz, H-3), 2.54(1H, dt, $J=5.5, 15.5$ Hz, H-4), 2.71-2.83(1H, m, H-4), 6.53(1H, s, H-5), 6.40(1H, s, H-8), 2.71-2.83(1H, m, H-9), 3.02(1H, dd, $J=14.0, 6.5$ Hz, H-9), 6.78(1H, d, $J=2.5$ Hz, H-2'), 6.73(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5'), 6.60(1H, dd, $J=8.5, 2.5$ Hz, H-6'), 2.44(1H, s, N-CH₃), 3.85(3H, s, OCH₃-6), 3.84(3H, s, OCH₃-4'). ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_c : 64.6(C-1), 46.9(C-3), 25.2(C-4), 130.6(C-4a), 110.5(C-5), 145.1(C-6), 143.4(C-7), 113.8(C-8), 125.5(C-8a), 41.1(C-9), 133.4(C-1'), 115.7(C-2'), 145.2(C-3'), 145.4(C-4'), 110.7(C-5'), 121.0(C-6'), 42.6(N-CH₃), 56.0(OCH₃-6), 56.0(OCH₃-4'). 以上 NMR 数据与文献报道^[14]的瑞枯灵(reticuline)一致,故鉴定该化合物为瑞枯灵.

化合物 6: 黄色棱晶, 碘化铋钾显橘红色. ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ_H : 6.66(1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1), 6.75(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-2), 7.54(1H, s, H-5), 6.33(1H, s, H-8), 3.71(1H, d, $J=5.4$ Hz, H-9), 2.98(1H, dd, $J=17.4, 5.4$ Hz, H-10), 3.33(1H, d, $J=16.8$ Hz, H-10), 1.77(1H, ddd, $J=12.6, 12.6, 4.8$ Hz, H-15), 2.37(1H, ddd, $J=13.2, 3.6, 1.8$ Hz, H-15), 2.49(1H, m, H-16), 2.61(1H, dd, $J=11.4, 3.6$ Hz, H-16), 6.33(1H, OH), 2.46(1H, s, N-CH₃), 3.89(3H, s, OCH₃-3), 3.75(3H, s, OCH₃-6). ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ_c : 119.0(C-1), 109.6(C-2), 145.5(C-3), 143.4(C-4), 120.4(C-5), 151.2(C-6), 181.5(C-7), 122.5(C-8), 61.2(C-9), 32.8(C-10), 129.8(C-11), 124.0(C-12), 43.7(C-13), 161.4(C-14), 37.7(C-15), 47.2(C-16), 41.8(N-CH₃), 56.4(OCH₃-3), 55.0(OCH₃-6). 以上 NMR 数据与文献报道^[15]的青风藤碱(sinoactine)一致,故鉴定该化合物为青风藤碱.

3.2 抗增殖活性测试结果

采用 CCK-8 法, 以顺铂为阳性药, 评价分离到的生物碱 1-6 对四种肿瘤细胞(人非小细胞肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 Hep G2、人胃癌细胞 HGC-27、人咽鳞癌细胞 FaDu)的抗增殖活性. 结果表明在 20 μ M 的浓度下, 化合物 1-6 对不同的肿瘤细胞呈现不同程度的抑制作用, 其抑制率小于 50%, 仅化合物 2 对 HGC-27 细胞生长的抑制率大于 50%, 设置浓度梯度, 测的该化合物的 IC₅₀ 值为 17.02 μ M(表 2).

表2 化合物 1-6 对四种肿瘤细胞的抗增殖活性

Tab. 2 The antiproliferative activity of compounds 1-6 against four tumor cell lines

化合物	IC ₅₀ 值			
	Hep G2	A549	FaDu	HGC-27
1	>20	>20	>20	>20
2	>20	>20	>20	17.02±4.45
3	>20	>20	>20	>20
4	>20	>20	>20	>20
5	>20	>20	>20	>20
6	>20	>20	>20	>20
顺铂	3.46±0.42	4.45±0.69	3.77±0.51	12.38±1.43

4 结语

从大花地不容中共分离鉴定出 6 个生物碱,涵盖阿朴啡型、原阿朴啡型、苜基四氢异喹啉型和青藤碱型生物碱,其中新化合物 *isothebaine-1-O-β-D-glucopyranoside* 为首次从大花地不容中分离出的生物碱糖苷. 对分离到的生物碱进行体外抗肿瘤细胞增殖活性测试,结果表明这 6 个生物碱对四种肿瘤细胞(Hep G2、A549、FaDu、HGC-27)生长有不同程度的抑制作用,其中化合物 2 对 HGC-27 细胞有较好的抗增殖效果,IC₅₀ 为 17.02 μM,化合物 2 作为大花地不容的主要生物碱之一,具有量丰且易获取的显著优势,能够作为先导化合物,进行结构修饰,以期发现高效低毒的活性化合物,为后续进一步深入开发和利用大花地不容提供了科学依据.

参 考 文 献

- [1] ZUO A X, RAO G X. Alkaloids from *Stephania macrantha* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2013, 49(5): 980-982.
- [2] 陈熾,袁天烁,徐亚明,等. 大花地不容中的生物碱[J]. 植物学报, 1994, (6): 486-488.
- [3] 孙国峰,陈封政,田冲,等. 大花地不容块根生物碱成分的研究[J]. 广西植物, 2023, 43(11): 2106-2112.
- [4] SUN H, HOU H, LU P, et al. Isocorydine inhibits cell proliferation in hepatocellular carcinoma cell lines by inducing G2/M cell cycle arrest and apoptosis [J]. PLoS One, 2012, 7(5): e36808.
- [5] ZHONG M, LIU Y, LIU J, et al. Isocorydine derivatives and their anticancer activities [J]. Molecules, 2014, 19(8): 12099-12115.
- [6] 郭锰,张成辉,吴婷婷. 荷包牡丹碱对人肝癌 MHCC97-H 细胞转移、侵袭的影响及机制研究[J]. 中草药, 2019, 50(22): 5515-5520.
- [7] KONDA Y, IMAI Y, HOJO H, et al. Suppression of tumor cell growth and mitogen response by aporphine alkaloids, dicentrine, glaucine, corydine, and apomorphine [J]. Journal of Pharmacobio-Dynamics, 1990, 13(7): 426-431.
- [8] HUANG R L, CHEN C C, HUANG Y L, et al. Anti-tumor effects of *d*-dicentrine from the root of *Lindera megaphylla* [J]. Planta Medica, 1998, 64(3): 212-215.
- [9] LONG J, SONG J, ZHONG L, et al. Palmatine: A review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics [J]. Biochimie, 2019, 162: 176-184.
- [10] TANAKA T, NAKASHIMA T, UEDA T, et al. Facile discrimination of aldose enantiomers by reversed-phase HPLC [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 2007, 55(6): 899-901.
- [11] 彭勇波,李甜甜,祝小峰,等. 对香豆酸抑制肺癌细胞增殖、迁移并诱导其凋亡的机制研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2023, 42(2): 180-186.
- [12] FERREIRA M L R, DE PASCOLI I C, NASCIMENTO I R, et al. Aporphine and bisaporphine alkaloids from *Aristolochia lagesiana* var. *intermedia* [J]. Phytochemistry, 2010, 71(4): 469-478.
- [13] 许进业,许凤清,孔垂皓,等. 粉防己根的化学成分及抗肝纤维化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(12): 2050-2055.
- [14] WAN O W N N, SALIM F, ZAHARI A, et al. Alkaloids of *Cryptocarya griffithiana* Wight. (syn. *Cryptocarya infectoria* Miq.) and their chemotaxonomic significance [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2023, 109: 104667.
- [15] KASHIWABA N, MOROOKA S, KIMURA M, et al. New morphinane and hasubanane alkaloids from *Stephania cepharantha* [J]. Journal of Natural Products, 1996, 59(5): 476-480.

(责编&校对 姚春娜)