

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202109076

廖广凤, 黎云清, 莫柳艳, 等, 2023. 白花银背藤中的生物碱及其细胞毒活性研究 [J]. 广西植物, 43(1): 43–49.

LIAO GF, LI YQ, MO LY, et al., 2023. Alkaloids from *Argyreia seguinii* and their cytotoxic activity [J]. *Guihaia*, 43(1): 43–49.

白花银背藤中的生物碱及其细胞毒活性研究

廖广凤, 黎云清, 莫柳艳, 刘彩兰, 卢汝梅*

(广西中医药大学药学院, 南宁 530200)

摘要: 为研究白花银背藤 (*Argyreia seguinii*) 的生物碱类成分及其细胞毒活性, 该研究采用硅胶、ODS、Sephadex LH-20 及半制备 HPLC 等柱色谱法对白花银背藤的 75% 乙醇提取物进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构, 并通过 MTS 法检测化合物对 5 种肿瘤细胞的增殖抑制活性。结果表明: 从白花银背藤中分离得到 9 个生物碱类化合物, 分别鉴定为 *N*-反式桂皮酰对羟基苯乙胺 (**1**)、*N*-反式对香豆酰基酪胺 (**2**)、*N*-反式阿魏酰酪胺 (**3**)、*N*-顺式阿魏酰酪胺 (**4**)、1*H*-吲哚-3-甲醇 (**5**)、金色酰胺醇酯 (**6**)、8-氧-四氢巴马亭 (**7**)、8-oxypalmatine (**8**) 和 12,13-dihydro-8-oxoberberine (**9**)。其中, 化合物 **1**、**4**–**9** 均为首次从该植物中分离得到, 化合物 **7** 和化合物 **8** 对肝癌 SMMC-7721 细胞显示细胞毒活性, 半抑制浓度 (IC_{50}) 值分别为 (15.50 ± 0.76) 、 $(14.24 \pm 0.72) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。该研究结果为进一步探讨白花银背藤的化学成分和药理活性奠定了基础, 为厘清壮药“一匹绸”的药材基原提供了一定依据。

关键词: 白花银背藤, 生物碱, 细胞毒活性, 化学成分, 壮药

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2023)01-0043-07

Alkaloids from *Argyreia seguinii* and their cytotoxic activity

LIAO Guangfeng, LI Yunqing, MO Liuyan, LIU Cailan, LU Rumei*

(College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

Abstract: In order to study the alkaloids and their cytotoxic activities from *Argyreia seguinii*, 75% ethanol extract from *A. seguinii* was isolated and purified by silica gel, ODS, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC, and the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. Five tumor cell cytotoxic activities of the compounds were determined by MTS method. Nine compounds were isolated and identified as *trans-N*-cinnamoyltyramine (**1**), *trans-N-p*-coumaroyltyramine (**2**), *N-trans*-feruloyltyramine (**3**), *N-cis*-feruloyltyramine (**4**), 1*H*-indole-3-carbaldehyde (**5**), aurantiamide acetate (**6**), 8-oxotetrahydropalmatine (**7**), 8-oxypalmatine (**8**) and 12,13-dihydro-8-oxoberberine (**9**). Compounds **1**, **4**–**9** were isolated from this plant for the first time, and compounds **7** and **8** showed inhibitory activities against the cancer SMMC-7721 cells with the IC_{50} values of (15.50 ± 0.76) , $(14.24 \pm 0.72) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The results of this study lay a foundation for further study of

收稿日期: 2022-09-12

基金项目: 广西科技基地和人才专项(桂科 AD20159007); 广西中医药大学博士科研启动基金(2019BS011); 广西一流学科建设重点课题(2018XK034); 广西高校青年教师科研基础能力提升项目(2020KY07038)。

第一作者: 廖广凤(1990-), 博士, 讲师, 研究方向为中药、民族药药效物质基础, (E-mail) guangfengliao@126.com。

*通信作者: 卢汝梅, 博士, 教授, 研究方向为中药、民族药药效物质基础, (E-mail) lrm1969@163.com。

the chemical constituents and pharmacological activities of *A. seguinii*, and provide a certain basis for clarifying the origin of Zhuang medicine “Yipichou”.

Key words: *Argyreia seguinii*, alkaloids, cytotoxic activity, chemical constituents, Zhuang medicine

白花银背藤 (*Argyreia seguinii*) 又名东京银背藤、白背藤、白面水鸡和滇一匹绸等, 为旋花科 (Convolvulaceae) 银背藤属 (*Argyreia* Lour.) 植物, 主产于广西、云南等地。白花银背藤主要以根、茎入药, 味微涩, 性温, 入心、肺二经, 具有驳骨、止血、生肌、收敛、润肺止咳的功效 (中药辞海编写组, 1993)。白花银背藤是广西民间常用的壮药, 收载于《中国壮药资源名录》《广西药用植物名录》和《广西中药材标准》中, 具有补血虚、调气道、续筋骨、止血的功效 (常小龙等, 2006)。白花银背藤单方制剂为白银宫血灵胶囊, 具有益气化痰、收敛止血的功效, 主要用于治疗功能性子宫出血 (邱宏聪等, 2011)。

银背藤属植物全世界约有 90 种, 主要分布在南亚和东南亚地区, 我国有 21 种。现代研究表明, 该属植物具有抗炎、抗菌、保肝和抗肿瘤等活性, 其化学成分丰富多样, 包括香豆素、黄酮、生物碱等 (Tofern et al., 1999; Sharma et al., 2015; Lalan et al., 2015)。目前, 从白花银背藤中分离得到的化学成分包括香豆素 (邱宏聪等, 2008; 贾薇等, 2008)、脂肪酸类 (常小龙等, 2005) 以及生物碱 (常小龙等, 2006) 等, 药理活性研究包括抗炎 (邱宏聪等, 2011)、止血 (陈海丰等, 2008) 等活性。其中香豆素类成分东莨菪内酯的抗炎活性研究受到较多关注。本课题组前期从同属植物白鹤藤 (*A. acuta*) 中分离得到一系列结构新颖的香豆素 (Li et al., 2021) 和生物碱 (卢汝梅等, 2018) 等成分, 其中吡啶里西定类新生物碱为白鹤藤碱, 初步药理研究表明其具有较好的抗肿瘤活性。长期以来, 在广西、云南等地白鹤藤和习用品白花银背藤, 俗名均为白面水鸡、一匹绸, 都作为壮药“一匹绸”药材使用, 属于民族药中常见的“同名异物”“地方习用”现象。那么白花银背藤是否也具有与白鹤藤类似的具有抗肿瘤活性的生物碱, 还有待进一步研究。

本文前期研究表明, 白花银背藤的氯仿部位提取物对肝癌 SMMC-7721 细胞株具有较好的细胞毒活性 [$IC_{50} = (42.17 \pm 1.05) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$]。为

进一步深入探讨白花银背藤的药效物质基础, 本研究对白花银背藤的氯仿部位, 特别是生物碱成分及其肿瘤细胞毒活性进行了研究, 以期合理开发利用这一植物资源提供依据。

1 材料与方 法

1.1 药材

白花银背藤药材于 2019 年采自广西河池市大化县, 经广西中医药大学韦松基教授鉴定为旋花科银背藤属植物白花银背藤 (*Argyreia seguinii*) 的地上部分。

1.2 仪器和试剂

Bruker AvanceIII 500 MHz 核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); Waters Autospec Premier p776 质谱仪 (美国 Waters 公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); LC-20AR 制备液相色谱仪 (日本岛津公司); 中低压 ODS 制备液相色谱仪 (美国格雷斯戴维森公司); 爱朗 CCA-1112A 旋转蒸发仪 (东京理化); CPA225D 型分析天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); ODS 柱色谱填料 (日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 柱色谱填料 (美国 Pharmacia 公司); 硅胶 (100~200 目、200~300 目) 及其余化学试剂 (国药集团化学试剂有限公司)。二甲基亚砜 (以色列生物公司); 阳性对照药物顺铂 (DDP) 和紫杉醇 (taxol) 均购自大连美仑生物技术有限公司; MTS 试剂盒 (普洛麦格公司); 白血病 HL-60、肺癌 A549、肝癌 SMMC-7721、乳腺癌 MCF-7、结肠癌 SW480 细胞株 (ATCC 细胞库)。

1.3 研究方法

1.3.1 提取和分离 取白花银背藤粗粉 20 kg, 用 75% 乙醇浸提 3 次, 合并提取液, 减压回收溶剂, 得到乙醇总提取物约 1 590 g。总浸膏用水悬浮, 依次使用石油醚 (60~90 °C)、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 回收溶剂, 得到石油醚部位浸膏 130 g、氯仿部位浸膏 47 g、乙酸乙酯部位浸膏 144 g、正丁醇部位浸膏 502 g、水部位浸膏 500 g。

取氯仿部位浸膏 45 g, 经硅胶柱色谱分离, 石

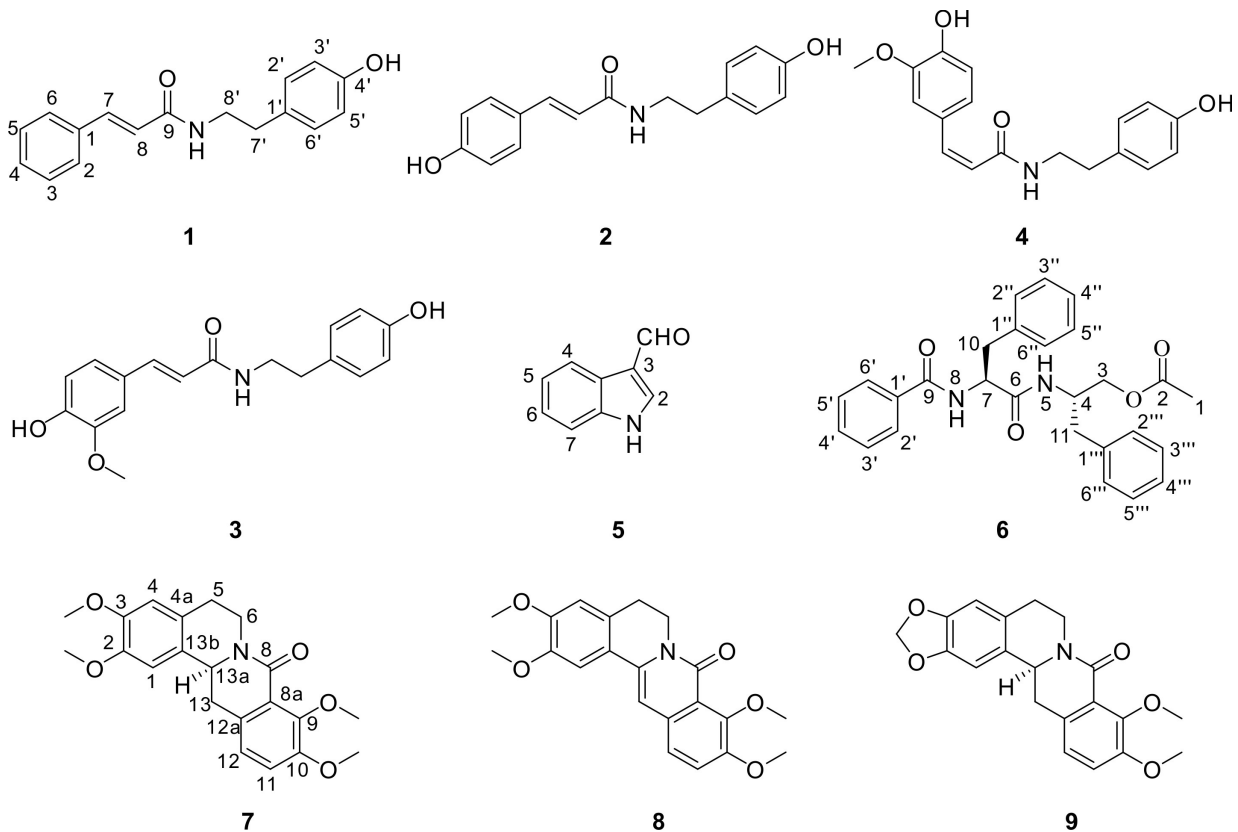


图 1 化合物 1-9 的结构式

Fig. 1 Structures of compounds 1-9

油醚-乙酸乙酯(10 : 0 ~ 1 : 1)梯度洗脱,分离得到 9 个组分 Fr.1~Fr.9。Fr.5 经 Sephadex LH-20 柱色谱分为 3 个组分(Fr.5-1~Fr.5-3)。其中,Fr.5-1 经甲醇重结晶得到化合物 **6**(白色针晶,7.8 mg),Fr.5-2 通过半制备 HPLC 色谱分离得到化合物 **5**(1.5 mg)。Fr.6 经中低压 ODS 制备液相色谱分离,用甲醇-水(10%~100%)梯度洗脱,划分为 4 个组分(Fr.6-1~Fr.6-4)。其中,Fr.6-1、Fr.6-3、Fr.6-4 分别用半制备 HPLC 色谱分离,得到化合物 **1**(4.0 mg)、**2**(4.9 mg)、**3**(5.0 mg)和化合物 **9**(6.0 mg)。Fr.7 经中低压 ODS 制备液相色谱分离,以甲醇-水(10%~100%)梯度洗脱,划分为 12 个组分(Fr.7-1~Fr.7-12)。其中,Fr.7-3、Fr.7-4 分别用半制备 HPLC 色谱分离,得到化合物 **7**(6.0 mg)、**8**(10.0 mg)。Fr.8 经 Sephadex LH-20 柱色谱分为 3 个组分(Fr.8-1~Fr.8-3)。其中,Fr.8-1 经半制备 HPLC 色谱纯化得到化合物 **4**(1.5 mg)。

1.3.2 细胞毒活性实验 细胞毒活性测试参考 Kaunda 等(2020)的方法,分别将对数期生长的白

血病 HL-60、肺癌 A549、肝癌 SMMC-7721、乳腺癌 MCF-7 及结肠癌 SW480 细胞调整浓度为 $3 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^5$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的细胞悬液,接种到 96 孔板,每孔体积 100 μL ,培养 24 h 后弃去旧培养液,PBS 清洗,分组给药,每组 3 个复孔,空白组加入新的完全培养液,实验组分别加入含待测样品的完全培养液每孔 200 μL 。化合物 **1-9** 分别用 DMSO 溶解,再用培养液稀释到相应浓度,单体化合物初次筛选终浓度为 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。根据初筛结果进行复筛,单体化合物终浓度分别为 40、8、1.6、0.32、0.064 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,并设顺铂(DDP)和紫杉醇(taxol)2 个阳性对照组。给药后放入培养箱中培养 48 h 后,弃去贴壁细胞孔内的培养液,分别加入 20 μL MTS 溶液和 100 μL 培养液;弃去悬浮细胞孔内培养上清液 100 μL ,再加入 MTS 溶液 20 μL 。设置加入 MTS 溶液和培养液分别为 20、100 μL 的 3 个空白复孔,放入培养箱中继续孵育 2~4 h 后测定光吸收值。使用多功能酶标仪于 492 nm 波长处,读取并记录各孔光吸收值。初筛数据经处理

后以分离得到的化合物编号为横坐标,肿瘤细胞抑制率为纵坐标绘制细胞的抑制率图,复筛结果处理后以分离得到的化合物浓度为横坐标,肿瘤细胞存活率为纵坐标绘制细胞生长曲线,应用 Reed 和 Muench (1938) 的方法计算化合物的 IC_{50} 值。应用 GraphPad Prism 7.0 统计软件进行统计分析,采用 ANOVA 检验,以 $\alpha=0.05$ 作为检验水准, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。化合物 1-9 的结构式如图 1 所示。

2 结果与分析

2.1 化合物的结构鉴定

化合物 1 白色粉末,溶于甲醇。ESI-MS m/z : 290 $[M + Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.54 (2H, m, H-2, 6), 7.37 (3H, m, H-3, 4, 5), 7.52 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 6.58 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 7.06 (2H, d, $J = 8.5$, 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.72 (2H, d, $J = 8.5$, 2.0 Hz, H-3', 5'), 2.76 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-7'), 3.47 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 136.3 (C-1), 128.8 (2C, C-2, 6), 129.9 (2C, C-3, 5), 130.7 (C-4), 141.6 (C-7), 121.9 (C-8), 168.6 (C-9), 131.2 (C-1'), 130.8 (2C, C-2', 6'), 116.3 (2C, C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 35.8 (C-7'), 42.6 (C-8')。以上数据与文献(冯文明等,2018)的报道基本一致,故鉴定为 *N*-反式桂皮酰对羟基苯乙胺 (*trans-N*-cinnamoyltyramine)。

化合物 2 淡黄色固体,溶于氯仿。ESI-MS m/z : 306 $[M + Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.40 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2, 6), 6.79 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3, 5), 7.44 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 6.38 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 7.05 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.71 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 2.75 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-7'), 3.46 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 127.7 (C-1), 130.7 (2C, C-2, 6), 116.7 (2C, C-3, 5), 160.5 (C-4), 141.8 (C-7), 118.4 (C-8), 169.2 (C-9), 131.3 (C-1'), 130.5 (2C, C-2', 6'), 116.2 (2C, C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 35.8 (C-7'), 42.6 (C-8')。以上数据与文献(杨炳友等,

2010)报道基本一致,故鉴定为 *N*-反式香豆酰酪胺 (*trans-N*-*p*-coumaroyltyramine)。

化合物 3 黄色粉末,溶于甲醇。ESI-MS m/z : 336 $[M + Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.09 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.79 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 7.01 (1H, dd, $J = 8.2$, 1.9 Hz, H-6), 7.43 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 6.40 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 7.05 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.72 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 2.75 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-7'), 3.46 (2H, t, $J = 7.4$ Hz, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 128.2 (C-1), 111.5 (C-2), 149.3 (C-3), 150.0 (C-4), 116.5 (C-5), 123.2 (C-6), 142.0 (C-7), 118.6 (C-8), 169.2 (C-9), 56.3 (3-OCH₃), 131.3 (C-1'), 130.7 (2C, C-2', 6'), 116.3 (2C, C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 35.8 (C-7'), 42.5 (C-8')。以上数据与文献(杨洋等,2016)报道一致,故鉴定该化合物为 *N*-反式阿魏酰酪胺 (*N-trans*-feruloyltyramine)。

化合物 4 白色无定形粉末,溶于甲醇。ESI-MS m/z : 336 $[M + Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.36 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.74 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.93 (1H, dd, $J = 8.2$, 2.0 Hz, H-6), 6.61 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, H-7), 5.81 (1H, d, $J = 12.7$ Hz, H-8), 3.83 (3H, s, 3-OCH₃), 7.00 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.69 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 2.69 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7'), 3.40 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 128.5 (C-1), 113.9 (C-2), 148.5 (C-3), 148.6 (C-4), 115.8 (C-5), 124.8 (C-6), 138.4 (C-7), 121.6 (C-8), 170.3 (C-9), 56.4 (3-OCH₃), 131.2 (C-1'), 130.7 (2C, C-2', 6'), 116.2 (2C, C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 35.6 (C-7'), 42.4 (C-8')。以上数据与文献(杨炳友等,2017)报道基本一致,故鉴定化合物 4 为 *N*-顺式阿魏酰酪胺 (*N-cis*-feruloyltyramine)。

化合物 5 淡黄色针状结晶,可溶于甲醇、氯仿。ESI-MS m/z : 146 $[M + H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 9.89 (1H, s, -CHO), 8.10 (1H, s, H-2), 8.16 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4), 7.25 (2H, m, H-5, 6), 7.48 (1H, d, $J = 7.8$

Hz, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 139.7 (C-2), 123.6 (C-5), 122.4 (C-6), 113.1 (C-7), 125.0 (C-8), 187.5 (CHO)。以上数据与文献(梁益敏等, 2017)报道一致, 故鉴定该化合物为 1*H*-吲哚-3-甲醇(1*H*-indole-3-carbaldehyde)。

化合物 6 白色针晶, 溶于丙酮、甲醇。ESI-MS m/z : 467 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.01 (3H, s, H-1), 3.98 (1H, dd, $J = 11.2, 4.4$ Hz, H-3a), 3.91 (1H, dd, $J = 11.2, 6.1$ Hz, H-3b), 4.31 (1H, m, H-4), 4.79 (1H, m, H-7), 3.13 (1H, dd, $J = 13.7, 6.9$ Hz, H-10a), 2.99 (1H, dd, $J = 13.7, 8.4$ Hz, H-10b), 2.82 (2H, m, H-11), 7.72 (2H, m, H-2', 6'), 7.42 (2H, t, m, H-3', 5'), 7.53 (1H, m, H-4'), 7.15 (2H, m, H-2'', 6''), 7.22 (3H, m, H-3'', 4'', 5''), 7.26 (2H, m, H-2''', 6'''), 7.19 (3H, m, H-3''', 4''', 5'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 20.8 (C-1), 173.2 (C-2), 66.1 (C-3), 51.2 (C-4), 172.5 (C-6), 56.6 (C-7), 169.9 (C-9), 39.0 (C-10), 38.1 (C-11), 135.3 (C-1'), 129.5 (2C, C-2', 6'), 128.4 (2C, C-3', 5'), 132.8 (C-4'), 138.9 (C-1''), 129.5 (2C, C-2'', 6''), 130.3 (2C, C-3'', 5''), 129.5 (C-4''), 138.5 (C-1'''), 129.5 (2C, C-2''', 6'''), 130.3 (2C, C-3''', 5'''), 127.5 (C-4''')。以上数据与文献(Mei et al., 2016)报道一致, 故鉴定该化合物为金色酰胺醇酯(aurantiamide acetate)。

化合物 7 白色针状结晶, 溶于氯仿、甲醇。ESI-MS m/z : 392 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.89 (1H, s, H-1), 6.81 (1H, s, H-4), 2.83 (1H, m, H-5 α), 1.31 (1H, m, H-5 β), 4.90 (1H, dd, $J = 11.3, 3.1$ Hz, H-6 α), 2.90 (1H, m, H-6 β), 7.16 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-11), 7.07 (1H, d, $J = 8.2, 1.1$ Hz, H-12), 3.20 (1H, dd, $J = 15.4, 3.2$ Hz, H-13 α), 2.73 (1H, ddd, $J = 15.0, 13.3, 1.2$ Hz, H-13 β), 4.75 (1H, dd, $J = 13.3, 3.2$ Hz, H-13a), 3.84 (3H, s, 2-OCH₃), 3.83 (3H, s, 3-OCH₃), 3.87 (3H, s, 9-OCH₃), 3.97 (3H, s, 10-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 111.1 (C-1), 149.5 (C-2), 149.6 (C-3), 112.9 (C-4), 129.2 (C-4a), 30.2 (C-5), 39.7 (C-6), 164.7 (C-8), 123.7 (C-8a), 151.1 (C-9), 154.2 (C-10), 117.1 (C-11),

123.8 (C-12), 132.8 (C-12a), 39.6 (C-13), 56.5 (C-13a), 128.7 (C-13b), 56.7 (2-OCH₃), 56.7 (3-OCH₃), 61.9 (9-OCH₃), 56.5 (10-OCH₃)。以上数据与文献(喻蓉等, 2003)的报道一致, 故鉴定该化合物为 8-氧-四氢巴马亭(8-oxotetrahydropalmatine)。

化合物 8 黄色针状结晶, 溶于氯仿、甲醇。ESI-MS m/z : 390 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.36 (1H, s, H-1), 7.03 (1H, s, H-4), 2.91 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-5), 4.90 (1H, dd, $J = 6.9, 5.6$ Hz, H-6), 7.46 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-11), 7.41 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-12), 7.02 (1H, s, H-13), 3.91 (3H, s, 2-OCH₃), 3.87 (3H, s, 3-OCH₃), 3.88 (3H, s, 9-OCH₃), 3.91 (3H, s, 10-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 109.4 (C-1), 150.0 (C-2), 151.9 (C-3), 111.9 (C-4), 130.0 (C-4a), 28.9 (C-5), 40.9 (C-6), 162.0 (C-8), 123.4 (C-8a), 150.1 (C-9), 152.7 (C-10), 120.6 (C-11), 124.1 (C-12), 134.0 (C-12a), 103.1 (C-13), 136.8 (C-13a), 119.6 (C-13b), 56.8 (2-OCH₃), 56.5 (3-OCH₃), 61.9 (9-OCH₃), 57.2 (10-OCH₃)。以上数据与文献(许颖, 2012)报道一致, 故鉴定该化合物为 8-oxypalmatine。

化合物 9 黄色针状结晶, 溶于甲醇。ESI-MS m/z : 376 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.83 (1H, s, H-1), 6.71 (1H, s, H-4), 2.83 (1H, m, H-5 α), 1.32 (1H, m, H-5 β), 4.84 (1H, m, H-6 α), 2.95 (1H, m, H-6 β), 7.17 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-11), 7.07 (1H, dd, $J = 8.3, 1.1$ Hz, H-12), 3.16 (1H, m, H-13 α), 2.75 (1H, m, H-13 β), 4.75 (1H, dd, $J = 13.3, 3.2$ Hz, H-13a), 3.86 (3H, s, 9-OCH₃), 3.87 (3H, s, 10-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 107.3 (C-1), 148.3 (C-2), 148.1 (C-3), 109.3 (C-4), 129.8 (C-4a), 30.3 (C-5), 39.7 (C-6), 164.7 (C-8), 123.6 (C-8a), 151.1 (C-9), 154.2 (C-10), 117.2 (C-11), 123.8 (C-12), 132.7 (C-12a), 39.7 (C-13), 56.7 (C-13a), 130.1 (C-13b), 56.8 (9-OCH₃), 61.9 (10-OCH₃)。以上数据与文献(Pinho et al., 1992; 刘丙蕊, 2011)的报道一致, 故鉴定该化合物为 12, 13-dihydro-8-oxoberberine。

2.2 细胞毒活性结果

化合物 7 和化合物 8 对肝癌细胞 SMMC-7721 具有一定的抑制率,其半抑制浓度(IC_{50})值分别为(15.50 ± 0.76)、(14.24 ± 0.72) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,阳性对照药物顺铂和紫杉醇分别为(10.28 ± 0.49)、(0.16 ± 0.01) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,其余化合物在 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下对 5 种肿瘤细胞(白血病 HL-60、肺癌 A549、肝癌 SMMC-7721、乳腺癌 MCF-7 及结肠癌 SW480 细胞)均未显示出细胞毒活性。与对照组相比,化合物 7 和化合物 8 能够显著抑制肝癌 SMMC-7721 细胞的增殖,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论与结论

本研究对白花银背藤氯仿部位的化学成分进行研究,共获得 9 个生物碱成分,除化合物 2 和化合物 3 外,其余均为首次从该植物中分离得到。其中化合物 7-9 为异喹啉类生物碱,此类生物碱在小檗科黄连(Tang et al., 2009)、防己科细圆藤(Yan et al., 2008)以及旋花科青风藤(Kou & Wang, 2008)等植物中均有分布,具有抗肿瘤活性且作用机制复杂。例如,小檗碱可以通过阻滞细胞分裂周期、刺激 Fas/FasL 信号通路及线粒体/半胱天冬酶通路、抑制拓扑异构酶和 NF- κ B 及其他核转录因子等多种途径,从而引起肿瘤细胞 DNA 损伤、诱导细胞凋亡(Tang et al., 2009; 钱平和杨秀伟, 2014)。

本研究细胞毒活性结果表明,化合物 7 和化合物 8 显示出较好的肿瘤细胞增殖抑制活性,而化合物 9 在 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下未显示细胞毒活性,其主要结构区别在于化合物 9 的 C-2、C-3 位为亚甲二氧基,推测可能与亚甲二氧基的取代影响拓扑异构酶 I 和 II 的选择性有关(Kobayashi et al., 1995)。此外,通过对比发现白花银背藤与白鹤藤的生物碱类成分有一定相似性,如均具有 *N*-反式对香豆酰基酪胺等生物碱,但生物碱的类型存在一定差异,白鹤藤中抗肿瘤活性成分为吡啶里西啶类生物碱,而白花银背藤中主要为异喹啉类生物碱。本研究结果为进一步探讨白花银背藤的化学成分和药理活性奠定了基础,为厘清壮药“一匹绸”的药材基原提供了一定依据。

参考文献:

- CHANG XL, WU LJ, TU PF, 2005. GC-MS analysis of fatty acid of *Argyrea seguinii* [J]. Chin J Chin Mat Med, 30(8): 626-627. [常小龙, 吴立军, 屠鹏飞, 2005. 白花银背藤中脂肪酸成分的 GC-MS 分析 [J]. 中国中药杂志, 30(8): 626-627.]
- CHANG XL, LI J, WU LJ, 2006. Chemical constituents from aerial parts of *Argyrea seguinii* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 37(2): 178-181. [常小龙, 李军, 吴立军, 等, 2006. 白花银背藤化学成分的研究 [J]. 中草药, 37(2): 178-181.]
- Chinese Medicine Cihai Writing Group, 1993. Chinese medicine cihai [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press: 485. [中药辞海编写组, 1993. 中药辞海 [M]. 北京: 中国医药科技出版社: 485.]
- CHEN HF, JIANG Y, LIANG SM, et al., 2008. Hemostatic effect of *Argyrea seguinii* [J]. Her Med, 27(10): 1186-1187. [陈海丰, 姜燕, 梁少妹, 等, 2008. 白花银背藤不同提取部位止血作用研究 [J]. 医药导报, 27(10): 1186-1187.]
- FENG WM, HAN ZZ, WANG ZT, 2018. Chemical constituents from *Dioscorea opposita* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 49(21): 5034-5039. [冯文明, 韩竹箴, 王峥涛, 2018. 山药化学成分研究 [J]. 中草药, 49(21): 5034-5039.]
- JIA W, WANG J, ZENG YE, et al., 2008. RP-HPLC determination of scopoletin in herba *Argyrea seguinii* [J]. Chin J Pharm Anal, 28(10): 1645-1647. [贾薇, 汪杰, 曾元儿, 等, 2008. RP-HPLC 法测定白花银背藤药材中东莨菪内酯的含量 [J]. 药物分析杂志, 28(10): 1645-1647.]
- KAUMDA JS, QIN XJ, ZHANG XZ, et al., 2020. Ten new glycosides, carissaedulosides A-J from the root barks of *Carissa edulis* and their cytotoxicities [J]. Bioorg Chem, 102: 104097.
- KOBAYASHI Y, YAMASHITA Y, FUJII N, et al., 1995. Inhibitors of DNA topoisomerase I and II isolated from the *Coptis rhizomes* [J]. Planta Med, 61(5): 414-418.
- KOU LQ, WANG XL, 2008. Chemical constituents of *Sinomenium acutum* [J]. Chin J Med Chem, 18(4): 294-297. [寇立群, 王晓玲, 2008. 清风藤化学成分的研究 [J]. 中国药物化学杂志, 18(4): 294-297.]
- LALAN BK, HIRAY RS, GHONGANE BB, 2015. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of extract of *Holoptelea integrifolia* and *Argyrea speciosa* in animal models [J]. J Clin Diagn Res, 9(7): 1-4.
- LIANG YM, YU Y, WANG GK, et al., 2017. Study on secondary metabolites of endophytic fungus *Fusarium lactis* from *Dendrobium huoshanense* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 48(22): 4608-4614. [梁益敏, 郁阳, 王国凯, 等, 2017. 霍山石斛内生真菌 *Fusarium lactis* 次生代谢产物研

- 究 [J]. 中草药, 48(22): 4608-4614.]
- LIU BR, 2011. Extraction, separation and bioactivity of alkaloids from *Sinomenium acutum* [D]. Yangling: Northwest A & F University; 31. [刘丙蕊, 2011. 青风藤中生物碱的提取分离和活性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学: 31.]
- LI YQ, ZHU XY, MO LY, et al., 2021. Chemical constituents of the folk medicinal plant *Argyrea acuta* Lour. and their anti-inflammatory activity [J]. Nat Prod Commun, 16(9): 1-5.
- LU RM, WANG X, MENG QY, et al., 2018. A new alkaloid from *Argyrea acuta* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 48(15): 3572-3575. [卢汝梅, 王肖, 蒙秋艳, 等, 2018. 白鹤藤中的 1 个新生物碱 [J]. 中草药, 48(15): 3572-3575.]
- MEI QX, CHEN XL, XIA X, et al., 2016. Isolation and chemotaxonomic significance of chemical constituents from *Rubus parvifolius* [J]. Chin Herb Med, 8(1): 75-79.
- PINHO P, PINTO M, KIJOA A, et al., 1992. Protoberberine alkaloids from *Coscinium fenestratum* [J]. Phytochemistry, 31(4): 1403-1407.
- QIAN P, YANG XW, 2014. Alkaloids from Zuojin Formula and their cytotoxicities against proliferation of cancer cells [J]. Chin Trad Herb Drugs, 45(1): 8-15. [钱平, 杨秀伟, 2014. 左金方的生物碱类成分及其对肿瘤细胞的细胞毒活性 [J]. 中草药, 45(1): 8-15.]
- QIU HC, LI M, MENG XL, 2009. Determination of scopoletin in the roots and stalks of herba *Argyrea seguinii* [J]. Shanghai J Trad Chin Med, 43(11): 81-82. [邱宏聪, 李茂, 孟夏林, 2009. 白花银背藤根和茎中东莨菪内酯的含量测定 [J]. 上海中医药杂志, 43(11): 81-82.]
- QIU HC, LI M, LI YJ, 2011. Study on anti-inflammatory effect of *Argyrea seguinii* [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 17(9): 207-208. [邱宏聪, 李茂, 李燕婧, 2011. 白花银背藤抗炎作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 17(9): 207-208.]
- QIU HC, LI M, WANG L, 2011. Study on hemostatic and anti-inflammatory effects of Baiyingongxueling capsule [J]. Chin Med Herald, 8(23): 24-25. [邱宏聪, 李茂, 王丽, 2011. 白银宫血灵胶囊止血抗炎作用研究 [J]. 中国医药导报, 8(23): 24-25.]
- REED LJ, MUENCH H, 1938. A simple method of estimating fifty per cent endpoints [J]. Am J Epidemiol, 27(3): 493-497.
- SHARMA B, DHAMIJA I, KUMAR S, et al., 2015. *In vitro* and *in vivo* evaluation of antitumor activity of methanolic extract of *Argyrea nervosa* leaves on ehrlich ascites carcinoma [J]. Bang J Pharm, 10(2): 399-408.
- TANG J, FENG YB, TSAO S, et al., 2009. Berberine and *Coptidis Rhizoma* as novel antineoplastic agents: A review of traditional use and biomedical investigations [J]. J Ethnopharmacol, 126(1): 5-17.
- TOFERN B, KALOGA M, WITTE L, et al., 1999. Occurrence of loline alkaloids in *Argyrea mollis* (Convolvulaceae) [J]. Phytochemistry, 51(8): 1177-1180.
- XU Y, 2012. Studies on the therapeutic basis of Chinese compound formula Xiao Xian Xiong Soup [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University; 76. [许颖, 2012. 小陷胸汤药效物质基础研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学: 76.]
- YANG BY, XIA YG, CHEN D, et al., 2010. Chemical constituents from the flower of *Datura metel* [J]. Chin J Nat Med, 8(6): 429-432. [杨炳友, 夏永刚, 陈东, 等, 2010. 洋金花的化学成分 [J]. 中国天然药物, 8(6): 429-432.]
- YANG BY, LU ZK, LIU Y, et al., 2017. Isolation and identification of chemical constituents from stems of *Datura metel* [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 17(23): 42-48. [杨炳友, 卢震坤, 刘艳, 等, 2017. 洋金花茎化学成分的分离鉴定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 17(23): 42-48.]
- YANG Y, MEI WL, DONG WH, et al., 2016. Bioactive components from agarwood originating from *Aquilaria crassna* [J]. J Trop Subtrop Bot, 24(5): 577-583. [杨洋, 梅文莉, 董文化, 等, 2016. 柯拉斯那沉香生物活性成分研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 24(5): 577-583.]
- YAN MH, CHENG P, JIANG ZY, et al., 2008. Periglaucines A-D, anti-HBV and -HIV-1 alkaloids from *Pericampylus glaucus* [J]. J Nat Prod, 71: 760-763.
- YU R, YE Q, CHEN B, et al., 2003. Chemical constituents of *Mitrephora maingayi* [J]. Nat Prod Res Dev, 15(3): 212-215. [喻蓉, 叶其, 陈斌, 等, 2003. 山蕉的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 15(3): 212-215.]

(责任编辑 蒋巧媛)