阿朴菲类生物碱抗癌活性研究进展

刘言娟[1, 2]，柳军玺[1*]，邸多隆[1*]

1. 中国科学院兰州化学物理研究所,中科院西北特色植物资源化学重点实验室,甘肃省天然药物重点实验室,甘肃 兰州 730000
2. 中国科学院研究生院，北京 100049

摘 要：阿朴菲类生物碱是一类重要的天然产物，其抗癌活性是近几年药学研究的热点。查阅国内外相关文献，总结阿朴菲类生物碱抗癌活性的基本构效关系、抗癌活性及其作用机制。1, 2-亚甲二氧基及 *N*-甲基取代对于该类化合物的细胞毒活性较关键，C-7 的氧化和脱氢有助于提高该类化合物的抗癌活性，C-6a 的手性及其他位置取代基对于抗癌活性的贡献目前尚未明确。阿朴菲类生物碱主要通过诱导细胞凋亡、抑制细胞增殖以及抑制 DNA 拓扑异构酶机制发挥抗癌作用。

关键词：生物碱；阿朴菲类生物碱；天然产物；抗癌活性；细胞毒活性

中图分类号：R282.710.5 **文献标志码**：A **文章编号**：0253 - 2670(2012)04 - 0806 - 09

Progress on anticancer activity of aporphine alkaloids

LIU Yan-juan[1, 2], LIU Jun-xi[1], DI Duo-long[1]

1. Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China
2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Key words: alkaloids; aporphine alkaloids; natural product; anticancer activity; cytotoxicity

植物被用于治疗人类的疾病历史悠久，即使在经济、技术比较发达的现代社会，仍然被许多国家作为传统药物进行基本的医疗保健[1-2]。然而，从自然资源中分离得到的化合物很少能直接作为药物用于临床，这些具有独特结构的化合物分子往往是作为一种模板，利用化学方法（全合成、组合化学或生物合成等）制备更加有效的类似物[1]。天然产物不仅丰富了有机化合物的分子结构库，而且为药学发现及药物分子设计提供重要的先导结构，统计表明，超过 50%的现有药物来自于对天然产物先导化合物的结构改造。目前，天然产物仍然是发掘具有潜能的药物新分子的源泉[2]。

天然产物在抗癌领域的研究取得了显著的成就，目前临床使用的抗癌药物中超过 60%来源于天然产物，主要包括植物、海洋生物、微生物，超过 3 000 种植物可用于治疗癌症[3-4]。生物碱是植物体内丰富的次级代谢产物，大多具有复杂的化学结构并具有显著的生物活性。阿朴菲类生物碱是异喹啉生物碱中的一类，该类生物碱广泛存在于 20 个科 100 多属的植物中[5-7]，包括木兰科、防己科、大戟科、樟科、马钱科、番荔枝科、马兜铃科、小檗科、罂粟科、毛茛科、芸香科等[8]。目前从植物中得到的阿朴菲类生物碱已经有 500 多种，加之生源相关的其他类型生物碱数目更大。天然阿朴菲类生物碱具有多种生物活性，包括抗氧化、抗血小板凝聚、抗惊厥、抗痉挛、抗肿瘤、抗疟疾、抗原虫、抗脊髓灰白质病毒、细胞毒性、抗帕金森病等。这类天然产物及其合成衍生物是发展治疗多种疾病药物的主导[9]。广泛的生理活性中最引人注目的是其中多数化合物具有体内外的抗癌活性。鉴于此，结合本课题组的研究领域，本文主要对阿朴菲类生物碱抗癌活性的研究进展进行综述。

1 阿朴菲类生物碱抗癌活性的基本构效关系

阿朴菲类生物碱具有四环结构，其母核结构见

收稿日期：2011-10-10

基金项目：甘肃省科技支撑计划资助项目（090NKCA127）

作者简介：刘言娟，女，硕士研究生，主要从事天然药物化学研究。E-mail: liuyanjuan09@163.com

***通讯作者** 柳军玺 Tel:(0931)4968249 E-mail: liujx@licp.cas.cn

邸多隆 Tel:(0931)4968248 E-mail: didl@licp.cas.cn

图 1，根据母核上取代基的不同可以将阿朴菲类生物碱分为简单阿朴菲类、氧化阿朴菲类、脱氢阿朴菲类、二聚体阿朴菲类。芳环取代基（多为 H、OH、OCH_3、$-CH_2O-$），*N* 取代基（H、OH、CH_3、$COCH_3$ 等）以及 C-6a 的绝对构型（*R*、*S* 构型）变化形成了该类化合物丰富的结构库[10]，因此，也为抗癌药物的筛选和结构修饰提供了丰富的资源。

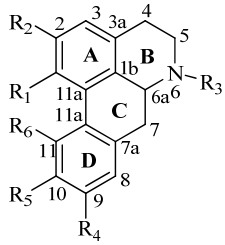


图 1 阿朴菲类生物碱的化学结构

Fig. 1 Chemical structure of aporphine alkaloids

与其他药物分子一样，阿朴菲类生物碱的药理活性与其母核结构和取代基之间存在着密切的关系。研究结果表明，如果阿朴菲类生物碱的分子内能呈现一个相对平面的结构，那么阿朴菲类化合物就能插入到 DNA 双链中，与 DNA 拓扑异构酶 II 的目标 DNA 高效结合，形成难于解离的分子复合物，这种竞争性结合抑制了酶的催化活性，提示可通过调整该类化合物的空间结构，形成一种相对平面状态，就能增加其与 DNA 的结合性，显示出细胞毒性[10]。氧化阿朴菲的氧化环使环的共轭性增强，宜于在分子内形成平面结构，因此相比较而言氧化阿朴菲的抗癌活性较强。Tran 等[11]研究发现 1, 2-亚甲二氧基取代基对于阿朴菲类生物碱的细胞毒性有非常重要的影响，大多数情况下具有该官能团的化合物的细胞毒性较强。另外，N 上氧化的阿朴菲类衍生物相比于具有相同母核的其他化合物来说，细胞毒性要低；一般阿朴菲类生物碱 B 环上的氮季胺化以后对细胞毒性是不利的，叔胺化对其抗癌活性有利[12]。Shashikanth 等[13]研究了阿朴菲类生物碱对人类结肠癌细胞株 HCT-116 的细胞毒性，研究发现 C-1 位上被酚羟基取代后对 HCT-116 细胞株的细胞毒性降低，C-1 位被烷氧基取代活性升高；阿朴菲类生物碱骨架上 N 的取代基是甲基时比其他取代基会体现更好的活性；对 C 环断裂的类似物 a 和 b（结构式见图 2）进行的研究表明，a 和 b 的活性显著下降，说明阿朴菲类生物碱各个环的完整性对其细胞毒活性是必需的。

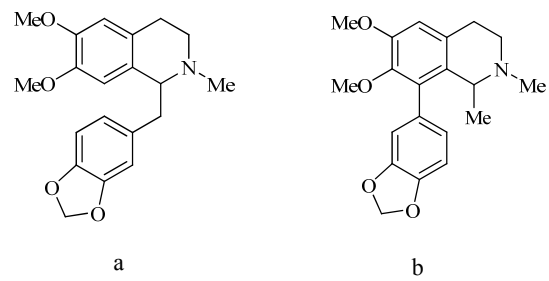


图 2 化合物 a 与 b 的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of compounds a and b

2 阿朴菲类生物碱的抗癌活性

鉴于阿朴菲类化合物结构的复杂性和涉及分子数目比较庞杂，本文按照该类化合物分子结构特征将阿朴菲类生物碱分为阿朴菲类、氧化阿朴菲类、脱氢阿朴菲类和阿朴菲二聚体分别阐述其抗癌活性。

2.1 阿朴菲类

到目前为止，对阿朴菲类抗癌活性的研究已经很多，阿朴菲类对多种癌细胞均有抑制作用，本文综述阿朴菲类对几种较常见癌细胞的抑制作用。部分阿朴菲类生物碱的结构见图 1 和表 1。

2.1.1 N 的取代情况对细胞毒性的影响 Munoz 等[14]经研究发现 roemrefidine（**18**）对人口腔表皮癌细胞株（KB）、子宫颈癌细胞株（HeLa）、肝癌细胞系（HepG-2）3 种癌细胞均没有细胞毒性，推测 B 环上的氮季胺化对阿朴菲类生物碱的细胞毒性不利。Tzeng 等[15]利用白血病细胞 L1210、CCRF-CEM、HL-60 3 种癌细胞株检测阿朴菲类生物碱的细胞毒性，发现 N 原子呈叔胺型的结构不论在细胞毒性，还是在 DNA、RNA 以及大分子蛋白质的生物合成抑制方面的活性都要显著大于季胺型结构。含叔氮的生物碱荷包牡丹碱对 3 种癌细胞株有中等的细胞毒性（IC_{50} 约为 30 μmol/L），而 N 被季胺化的荷包牡丹碱几乎没有活性。

Tran 等[11]也对氮的取代情况对阿朴菲类生物碱细胞毒性的影响进行研究。采用肺癌细胞株（A549）、HeLa、乳腺癌细胞株（MCF-7）、前列腺癌细胞株（PC3、LNcap）检测 7 种阿朴菲类生物碱（化合物 **31**～**37**，结构见图 3）的细胞毒性。结果显示，具有 1, 2-亚甲二氧基的阿朴菲类生物碱（**31**、**32**、**35**）对所检测的癌细胞株有活性。而化合物 **33** 和 **34** 虽然具有 1, 2-亚甲二氧基，但却没有细胞毒性，出现这一现象的原因可能是 B 环上的 N 被氧化

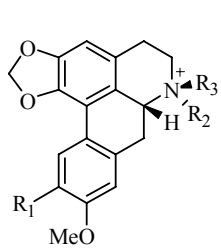
表 1 部分阿朴菲类生物碱的化学结构

Table 1 Chemical structures of some aporphine alkaloids

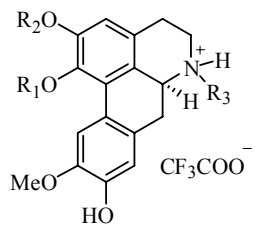
序号	化合物	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6
1	黄肉楠碱（actinodaphnine）	O-CH_2-O		H	OH	OCH_3	H
2	番荔枝碱（anonaine）	O-CH_2-O		H	H	H	H
3	褐鳞碱（bulbocapnine）	O-CH_2-O		CH_3	H	OCH_3	OH
4	无根藤新碱（cassythicine）	O-CH_2-O		CH_3	OH	OCH_3	H
5	芳香厚壳桂碱（cryptodorine）	O-CH_2-O		H	O-CH_2-O		H
6	荷包牡丹碱（dicentrine）	O-CH_2-O		CH_3	OCH_3	OCH_3	H
7	异月桂碱（isolaureline）	O-CH_2-O		CH_3	OCH_3	H	H
8	新木姜子素（neolitsine）	O-CH_2-O		CH_3	O-CH_2-O		H
9	*N*-羟基莲叶桐碱（*N*-hydroxyovigerine）	O-CH_2-O		OH	H	O-CH_2-O	
10	*N*-methylhernangerine	O-CH_2-O		CH_3	H	OH	OCH_3
11	*N*-甲基莲叶桐碱（*N*-methylovigerine）	O-CH_2-O		CH_3	H	O-CH_2-O	
12	去甲荷包牡丹碱（nordicentrine）	O-CH_2-O		H	OCH_3	OCH_3	H
13	*O*-甲基空褐鳞碱（*O*-methylbul-bocapnine）	O-CH_2-O		CH_3	H	OCH_3	OCH_3
14	莲叶桐碱（ovigerine）	O-CH_2-O		H	H	O-CH_2-O	
15	番藤宁（phanostenine）	O-CH_2-O		CH_3	OCH_3	H	H
16	莲碱（roemerine）	O-CH_2-O		CH_3	H	H	H
17	裂叶罂栗碱（roemeroline）	O-CH_2-O		CH_3	OH	H	H
18	roemrefidine	O-CH_2-O		$(CH_3)_2$	H	H	H
19	木番荔枝碱（xylopine）	O-CH_2-O		H	OCH_3	H	H
20	海罂栗碱（glaucine）	OCH_3	OCH_3	CH_3	OCH_3	OCH_3	H
21	异紫堇碱（isocorydine）	OCH_3	OCH_3	CH_3	H	OCH_3	OH
22	六驳碱（laurotetanine）	OCH_3	OCH_3	H	OH	OCH_3	H
23	*N*-甲基六驳碱（*N*-methyllaurotetanine）	OCH_3	OCH_3	CH_3	OH	OCH_3	H
24	去甲南天宁碱（nornantenine）	OCH_3	OCH_3	H	O-CH_2-O		H
25	原荷叶碱（nornuciferine）	OCH_3	OCH_3	H	H	H	H
26	波尔丁（boldine）	OCH_3	OH	CH_3	OH	OCH_3	H
27	hernovine	OCH_3	OH	H	H	OH	OCH_3
28	*N*-methylhernovine	OCH_3	OH	CH_3	H	OH	OCH_3
29	紫堇碱（corydine）	OH	OCH_3	CH_3	H	OCH_3	OCH_3
30	木兰花碱（magnoflorine）	OH	OCH_3	$(CH_3)_2$	H	OCH_3	OH

的缘故[11]。这一推测与 Shashikanth 等[13]的研究结果一致。Shashikanth 等将南天竹菲碱（**38**）（图 3）B 环中 N 上的-CH_3 依次被-CH_3CO、-CH_3CH_2OCO、-CH_3SO_2 取代得到化合物 **39**～**41**（图 3），检测这 4 种阿朴菲类生物碱的细胞毒性，南天竹菲碱对结肠癌细胞 HCT-116 和结肠腺癌细胞 Caco-2 有细胞毒性，而化合物 **39**～**41** 对 2 种癌细胞的细胞毒性明显下降。研究发现，N 被氧化的阿朴菲类生物碱细胞毒性也会下降[16]。由此推测，就细胞毒性而言，阿朴菲类生物碱 B 环中 N 上被-CH_3 取代是有利的，N 被含氧官能团取代会使其细胞毒性下降[13]。

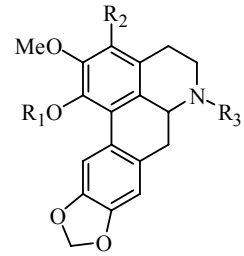
综上所述，N 上的取代基对细胞毒性的影响非常大：N 上被 CH_3 取代时对细胞毒性有利，被其他官能团尤其是含氧官能团取代时其细胞毒性降低；N 原子发生氧化后活性降低，这可能与 N 原子上的孤对电子被共用有关[10]；N 叔胺化对细胞毒性有利，而 N 季胺化会使细胞毒性下降甚至丧失活性。但 N 原子的类型决定着化合物对不同细胞株的敏感性[10]。



31 R_1 = OH, R_2 = R_3 = H
32 R_1 = R_2 = H, R_3 = CH_3
33 R_1 = H, R_2 = CH_3, R_3 = OH
34 R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = CH_3



35 R_1 = R_2 = CH_2, R_3 = H
36 R_1 = CH_3, R_2 = R_3 = H
37 R_1 = R_3 = CH_3, R_2 = H



38 R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = CH_3
39 R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = CH_3CO
40 R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = CH_3CH_2OCO
41 R_1 = CH_3, R_2 = H, R_3 = CH_3SO_2

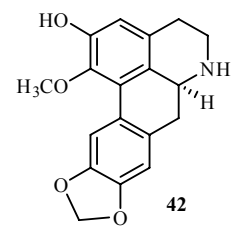
图 3 化合物 31～41 的化学结构

Fig. 3 Chemical structures of compouds 31—41

所以，N 的取代情况以及 N 上的取代基与其他官能团之间的相互作用对细胞毒性的影响还需进一步的研究。

2.1.2 1, 2-亚甲二氧基取代对细胞毒性的影响 在阿朴菲类生物碱细胞毒性机制研究方面，具有亚甲二氧基基团的生物碱较不具该结构的生物碱表现出更好的 DNA 双螺旋结构热变性稳定作用，并能通过 DNA 嵌入方式显示出对拓扑异构酶 I 的抑制活性，这可能是含有该基团的阿朴菲类生物碱具有较强细胞毒性的原因之一[8]。

化合物 **1**～**19** 的结构中均存在 1，2-亚甲二氧基基团，对这些化合物抗癌活性的研究在很多文献中已有报道。*S*-莲叶桐碱和 *S*-*N*-甲基莲叶桐碱对 P388、KB16、A549 和 HT-29 4 种癌细胞株均有较强的细胞毒性（IC_{50}＜4 μmol/L）。*S*-*N*-羟基莲叶桐碱对 KB16 和 *S*-*N*-methylhernangerine 对 P388 的细胞毒性与普卡霉素相当[17-18]。黄肉楠碱、番荔枝碱、无根藤新碱和荷包牡丹碱对 P3HR-1、MK-2 和 HEP-2 3 种癌细胞都表现出细胞毒性[19]。黄肉楠碱、荷包牡丹碱和新木姜子素在体外对 HeLa、MeI-5 和 HL-60 3 种癌细胞株和非癌细胞株 NIH3T3 有细胞毒性。虽然它们都具有抗癌活性，但对癌细胞没有选择性；而对生长较快的细胞都有抑制作用，不论这些细胞有没有致癌特性[20]。其中，新木姜子素对 HeLa 和 NIH3T3 的活性最强（IC_{50} 分别为 21.6、21.4 μmol/L），黄肉楠碱对 MeI-5 和 HL-60 的细胞毒性最强（IC_{50} 分别为 25.7、15.4 μmol/L）[20]。皮埃兰千金藤 *Stephania pierrei* Diels 提取物对多种癌细胞具有抑制活性，从中分离出具有 1, 2-亚甲二氧基的阿朴菲类生物碱：荷包牡丹碱、裂叶罂栗碱、木番荔枝碱、异月桂碱、番荔枝碱、去甲荷包牡丹碱、番藤宁、无根藤新碱，它们几乎对所有检测的癌细胞具有细胞毒性（IC_{50} 约为 15 μmol/L）[21]。而那些不含有 1, 2-亚甲二氧基基团的阿朴菲类生物碱几乎没有细胞毒性[21]。1, 2-亚甲二氧基对细胞毒性的影响是非常显著的，无根藤新碱的细胞毒性是 *N*-甲基六驳碱和波尔丁的 5 倍[22]。*O*-甲基空褐鳞碱能抑制放射性细胞前体连接到 DNA、RNA 和蛋白质上。通过比较 isodomesticine（**42**，图 4）和新木姜子素对 HepG-2、MCF-7、B16-F10、786-O（IC_{50} 值分别为 41.5、10.3，＞50、10.2，23.3、10.2，41.6、26.6 μmol/L）细胞毒性的结果表明，A 环上 1, 2-亚甲二氧基取代比 OH 和 OCH_3 两官能团邻位取代的阿朴菲类生物碱表现出更高的活性[16]。



42

图 4 Isodomesticine 的化学结构

Fig. 4 Chemical structure of isodomesticine

对于含 1, 2-亚甲二氧基的阿朴菲类生物碱大部分对癌细胞有细胞毒性，但是，并非所有含有该官能团的阿朴菲类生物碱都有细胞毒性。褐鳞碱、roemrefidine、*O*-甲基空褐鳞碱、莲碱和芳香厚壳桂碱 5 种阿朴菲类虽然结构中都含有 1, 2-亚甲二氧基，但是它们的细胞毒性很弱，有的甚至没有细胞毒性。褐鳞碱与对多种癌细胞都有细胞毒性的荷包牡丹碱在结构上的差别是褐鳞碱的 C-11 上被-OH 取代，C-9 位上的 OCH_3 消失[22]。Montenegro 等[23]研究也发现，含 1, 2-亚甲二氧基的 *R*-木番荔枝碱、

S-芳香厚壳桂碱和 C-9, 10 位上含亚甲二氧基的 *S*-木兰花碱对所测试的两种细胞株都没有细胞毒性（IC_{50}＞40 μmol/L）。由此可以推测，含 1, 2-亚甲二氧基并不是阿朴菲类生物碱具有细胞毒性的充分条件，其与周围各官能团之间的相互作用对活性有较大的影响。

2.1.3 各环上的取代基对细胞毒性的影响 阿朴菲类生物碱各环上甲氧基基团的数目、位置对于细胞毒性有重要的影响[11]。另外，各环上较常见的取代基还有羟基和甲基，它们对活性也有影响。化合物 **20**～**25** 的 C-1 和 C-2 位均是甲氧基取代。*S*-六驳碱对 P388 的细胞毒性与普卡霉素的细胞毒性相当。*N*-甲基六驳碱在结构上与 *S*-六驳碱的差异是 N-6 位上被甲基取代，但是两者的细胞毒性却有较大差异，*S*-六驳碱的细胞毒性强于 *N*-甲基六驳碱。海罂粟碱与 *N*-甲基六驳碱在结构上的区别是 C-9 位被甲氧基取代，而 *N*-甲基六驳碱被羟基取代，海罂粟碱细胞毒活性较强，对放射性细胞前体连接到 DNA、RNA 和蛋白质上有一定的抑制作用[21]；对结肠癌细胞的生长有抑制活性[24]；对 P3HR-1、MK-2 和 HEP-2 3 种癌细胞均表现出细胞毒性[19]；还对 HeLa 癌细胞有较强的细胞毒性（IC_{50} 为 8.2 μmol/L）[25]。由此可以推测阿朴菲类生物碱母核上其他位置取代基相同的前提下，C-9 位上被甲氧基取代比羟基取代细胞毒性高。

Montenegro 等[23]研究发现 *S*-去甲南天宁碱和 *S*-原荷叶碱对所检测的 2 种癌细胞株都没有细胞毒性（IC_{50}＞40 μmol/L）。*S*-原荷叶碱除了 C-1 和 C-2 位上分别被甲氧基取代外，母核的其他位置上没有被别的取代基取代。因此，推测 *S*-原荷叶碱细胞毒性低可能一方面是因为其 C-6 位上的 N 不是对活性有利的甲基取代；另一方面，一般 C-10 位上被甲氧基或者羟基取代时细胞毒性会较高。*S*-去甲南天宁碱的结构中虽然有 9, 10-亚甲二氧基，但是其细胞毒性仍然不高，这也可能是因为 C-6 位上的 N 没有叔胺化的缘故。

2.1.4 各环取代和 N 上取代情况共同对细胞活性的影响 *S*-异紫堇碱虽然 C-6 位上的 N 被叔胺化，但是其对 KB 细胞没有细胞毒性[26]，也没有破坏 DNA 的特性[27]。You 等[28]的研究也发现，*S*-异紫堇碱对一系列人类肿瘤细胞株没有细胞毒性。波尔丁、hernovine 和 *N*-methylhernovine 3 种化合物 C-1 位上均被甲氧基取代，C-2 位上均被羟基取代。Hernovine 和 *N*-methylhernovine 结构的区别是 *N*-methylhernovine 的 B 环上 N 叔胺化，而 hernovine B 环上的 N 被仲胺化。Hernovine 对 P388 细胞株有选择性细胞毒性（IC_{50} 为 0.7 μmol/L），对 HT-29、KB16 和 A549 也有细胞毒性（IC_{50} 为 20、45、45 μmol/L）。然而，*S*-hernovine 氮上甲基取代的类似物 *S*-*N*-methylhernovine 却对这几种癌细胞没有细胞毒性[17-18]。

波尔丁与 *N*-methylhernovine 结构上的不同在于其 C-9 位上是羟基取代，C-10 位上是甲氧基取代，*N*-methylhernovine 是 C-10 位上羟基取代，C-11 位上甲氧基取代。波尔丁对 U138-MG、U87-MG 和 C6 3 种神经胶质瘤细胞株均有细胞活性[29]，波尔丁抑制神经胶质瘤细胞生长的机制：一方面可能是诱导癌细胞凋亡；另一方面，可能是减少癌细胞扩散[29]。对波尔丁与 *N*-methylhernovine 的结构和活性进行比较可知，虽然二者取代基及其数目都相同，但是取代基的位置不同所引起的活性的差别也是非常大的。*S*-紫堇碱和 *S*-木兰花碱，C-1、C-2 和 C-10 位都分别被羟基、甲氧基和甲氧基取代，不同的是 N-6 和 C-11 位上的取代情况不同。*S*-紫堇碱对 KB 细胞没有细胞毒性，*S*-木兰花碱对 P388 有选择性细胞毒性（IC_{50} 为 0.7 μmol/L）。

不同取代情况的阿朴菲类生物碱的细胞毒性研究结果表明，亚甲二氧环对其细胞毒性有重要意义；同时生物碱的极性大小也对其细胞毒性具有重要影响，如强极性的季胺类生物碱表现出较小的细胞毒性；不同生物碱对不同的癌细胞系敏感度有差异，取代基结构对活性影响情况较为复杂[8]。综上所述，对于阿朴菲类生物碱来说，C-1、C-2、N-6、C-10 和 C-11 位上的取代情况对细胞毒性的影响显著，寻找各个位点上对细胞毒性最有利的取代基，母核上各官能团之间的相互作用情况以及阿朴菲类的结构与抗癌活性之间的构效关系，都需要进行深入的研究来探寻。

2.2 氧化阿朴菲类

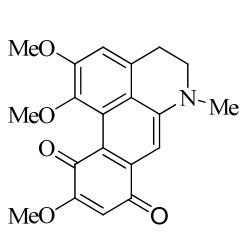
氧化阿朴菲由于氧化环延展了环的共轭性，易于在分子内形成平面结构，因此，氧化阿朴菲类可能较阿朴菲类表现出更强的抗癌活性[10]。

对秃疮花化学成分及抗癌活性成分的筛选研究中，发现该植物中含有大量的异紫堇碱和量极低的异紫堇二酮（isocorydione，**43**，图 5）。异紫堇碱的抗癌活性较差，但异紫堇二酮具有较好的

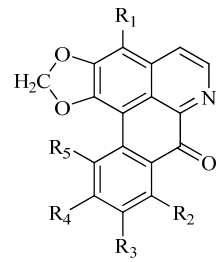
抗癌活性[30-31]。

Wu等[32]对6种阿朴菲类、5种氧化阿朴菲类、9种氮被氧化的阿朴菲类、7种菲类的抗癌活性进行检测。结果显示，在所测的结构不同的几种化合物中，活性最强的是3种氧化阿朴菲类，分别是荷包牡丹酮（**44**）、鹅掌楸碱（**45**）和氧化木番荔枝碱（**46**）（图5）。研究还发现，如果去掉氧化基团会使这些化合物对一些癌细胞株的活性显著下降[32]。这一研究结果与Tzeng等[15]的研究一致，将阿朴菲类与C-7位上被氧化的阿朴菲类进行活性比较，得出结论：氧化基团对于细胞毒性和抑制细胞前体连接到DNA、RNA和蛋白质上的活性是非常重要的。Emmanoel等[33]研究了从*Guatteria blepharophylla* (Mart.) Mart中提取的化合物的抗癌活性，其中包括几种氧化阿朴菲类生物碱（**47**～**51**）。化合物**48**对非小细胞肺癌NCI-H460有显著的抗癌细胞扩散的活性；化合物**49**和**51**对不同的肿瘤细胞系均表现出显著的抗癌细胞扩散的活性[33]。

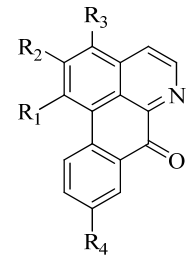
化合物 **47**～**51** 有相同的骨架结构，但是它们的取代基不同。实验结果表明，C-3 位上甲氧基取代会降低氧化阿朴菲类生物碱的抗癌细胞扩散的活性（如化合物 **50**），甚至会使化合物活性丧失（如化合物 **47**）。而 C-3 位上羟基取代对活性有利（如**51**）。具有该母核结构的氧化阿朴菲类生物碱，含 1, 2-亚甲二氧基（如化合物 **49**）或者是 C-1 和 C-2 位均被甲氧基取代抗癌活性最强[33]。



43



44 $R_1 = R_2 = R_5 = H$, $R_3 = R_4 = OCH_3$
45 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$
46 $R_1 = R_2 = R_4 = R_5 = H$, $R_3 = OCH_3$
49 $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = H$



47 $R_1 = R_2 = R_3 = OCH_3$, $R_4 = H$
48 $R_1 = R_2 = OCH_3$, $R_3 = R_4 = H$
50 $R_1 = R_2 = R_3 = OCH_3$, $R_4 = OH$
51 $R_1 = R_2 = OCH_3$, $R_3 = OH$, $R_4 = H$

图 5 氧化阿朴菲类生物碱的化学结构

Fig. 5 Chemical structures of oxoaporphine alkaloids

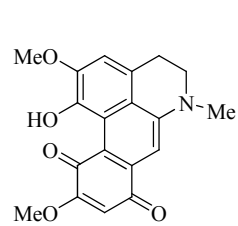
2.3 脱氢阿朴菲类

脱氢阿朴菲类是指 C-6a 和 C-7 位脱去氢的阿朴菲类生物碱。对于阿朴菲类生物碱来说其结构的平面性越好，越容易插入到 DNA 双链结构中，从而抑制 DNA 拓扑异构酶 II 的活性，发挥抗癌活性。从脱氢阿朴菲的骨架结构可以看出，其 B 环相对于阿朴菲类共轭性增强，化合物分子内的平面性也增强。因此，推测脱氢阿朴菲可能具有较强的抗癌活性。

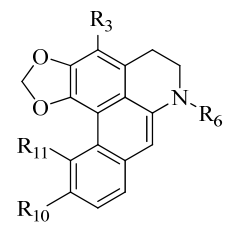
体外检测脱氢阿朴菲类对 P388、KB16、A549 和 HT-29 4 种癌细胞株的活性显示，*N*-formyldehydroovigerine（**52**）和 demethylsonodione（**54**）两种脱氢阿朴菲类生物碱对 4 种癌细胞株都有细胞毒性（IC_{50}＜4 μmol/L）。其中，*N*-formyldehydroovigerine 对 KB16 的细胞毒性与抗癌药物光辉霉素相当[17-18]。而脱氢阿朴菲衍生物 dehydrostephalagine（**53**）对所检测的癌细胞既没有细胞毒性也没有破坏 DNA 的能力[28]。结构式见图 6。

2.4 阿朴菲类二聚体

阿朴菲类二聚体生物碱包括阿朴菲连接苄基异



52 $R_3 = H$, $R_6 = CHO$, $R_{10} = R_{11} = O\text{-}CH_2\text{-}O$
53 $R_3 = R_6 = CH$, $R_{10} = R_{11} = H$

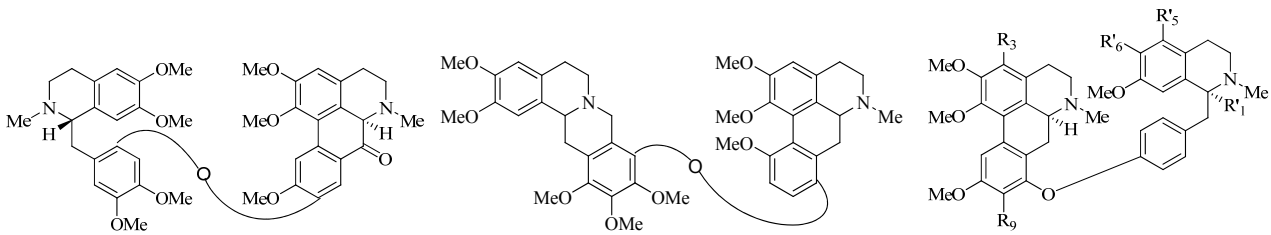


54

图 6 脱氢阿朴菲类生物碱的化学结构

Fig. 6 Chemical structures of dehydrogenation aporphine alkaloids

喹啉类、阿朴菲连接苯类、阿朴菲连接帕威类及双阿朴菲 4 类化合物。其中绝大部分化学结构由阿朴菲和一个苄基异喹啉通过单醚键连接而成，少数由阿朴菲通过碳键连接而成[34]。研究发现唐松草碱（**55**）对抗顺铂大鼠卵巢癌细胞（O-342/DDP）的作用强于亲本细胞（O-342），提示唐松草碱可能替代顺铂治疗对顺铂抗药并伴有体温过高的恶性肿瘤[34]。Chen 等[35]研究发现唐松草碱对 2 种人类神经胶质瘤细胞（T406、GW27）具有抗增殖作用。唐松草阿原碱（**56**）能诱导人类非小细胞肺癌细胞（PLA-801）凋亡。凋亡细胞所占的百分比随着药物浓度和用药时间的提高而增大，当唐松草阿原碱的浓度为 0.11 μmol/mL，处理时间为 48 h 时，凋亡细胞所占的百分比达到最大值（约为 58%）。同时还发现，唐松草阿原碱对非小细胞肺癌细胞的 IC_{50} 值比 PLA-801 癌细胞的高，这说明唐松草阿原碱具有很好的选择性[35]。Lin 等[36]研究发现，thalifaberidine（**57**）、thalifaberine（**58**）、thalifasine（**59**）对多种人类癌细胞都有细胞毒性，IC_{50} 值在 1～25 μmol/L。结构式见图 7。



55 **56**

57 $R_1 = R_5 = H$, $R_3 = OCH_3$, R_6, $R_9 = OH$
58 $R_1 = R_5 = H$, $R_3 = R_6 = R_9 = OCH_3$
59 $R_1 = H$, $R_3 = R_5 = OH$, $R_6 = R_9 = OCH_3$

图 7 阿朴菲类二聚体的化学结构

Fig. 7 Chemical structures of aporphin dimers

3 阿朴菲类生物碱抗癌活性作用机制

到目前为止，对阿朴菲类生物碱抗癌机制还不是很明确，主要包括细胞凋亡机制、减少或抑制癌细胞扩散机制、抑制 DNA 拓扑异构酶机制。

3.1 诱导细胞凋亡

凋亡是包括自噬、坏死、衰老等细胞死亡方式中的一种。阿朴菲类二聚体唐松草阿原碱能够使人类非小细胞肺癌细胞株（PLA-801）发生凋亡，凋亡方式是激活一种内源性抑制酶，利用该内源性抑制酶切割 DNA 链，使 DNA 降解成 180～200 bp 的小片段，进而使细胞体凋亡[36]。Montrirattigri 等[37]研究表明，从 *Stephania venosa* (Blume) 中提取的阿朴菲类化合物及其乙醇提取物均对卵巢癌细胞株（Skov3）有细胞毒性。通过 MTT 法证明，阿朴菲类化合物以 DNA 降解的方式使卵巢癌细胞凋亡。

3.2 减少或抑制癌细胞扩散

通过检测有丝分裂指数和细胞周期来分析细胞的扩散情况。细胞周期的进行依赖于细胞周期素的激活和细胞周期蛋白依赖性激酶（CDKs）。其功能是在 G_1 期启动 S 期，并且使分裂进入 G_2/M 期[38]。

从 *Stephania venosa* 中提取的阿朴菲类化合物及其乙醇提取物除了能使卵巢癌细胞凋亡以外，它们对肿瘤细胞的扩散也有明显的抑制作用[37]。波尔丁对恶性神经胶质瘤的作用机制就是抑制癌细胞扩散。在 Daniéli 等[27]通过流式细胞术研究表明，波尔丁处理恶性神经胶质瘤细胞株（U138-MG）24 h 以后，G_2/M 期细胞所占的百分比显著增加，表明波尔丁是通过将细胞周期阻断在 G_2/M 期从而减少癌细胞扩散，达到抗癌的效果。厚果唐松草碱（thalicarpine）与肿瘤细胞株共培养，5 h 内细胞株的细胞周期停滞于 G_2/M 期，之后则停滞于 G_1 期，而细胞停滞于 S 期的细胞株则完全停止了 DNA 复制[37]。

3.3 抑制 DNA 拓扑异构酶

DNA 拓扑异构酶是存在于细胞核内的一类酶，能够催化 DNA 链的断裂和结合，从而控制 DNA 的拓扑状态。阿朴菲类生物碱独特的母核结构决定了该类生物碱分子内能呈现一个相对平面的结构，使其能选择性地与 DNA 拓扑异构酶 II 的目标 DNA 高效结合，形成的分子复合物很难解离，阿朴菲类生物碱通过这种竞争性结合抑制了 DNA 拓扑异构酶 II 的催化活性而显示出细胞毒性。荷包牡丹碱的

抗癌机制就是其能键合插入到 DNA 链中，通过与拓扑异构酶竞争夺取拓扑异构酶的目标 DNA 而抑制其活性，从而达到抗癌作用。

4 结语

阿朴菲类生物碱中具有抗癌活性的化合物非常丰富，且这些化合物具有特殊和较强的抗癌作用及比较特殊的作用机制，作为候选抗癌药物以及先导化合物值得进一步研究。阿朴菲类化合物抗癌活性的构效关系和作用机制虽然已有大量的研究成果，但本课题组在对异紫堇二酮的抗癌作用及机制研究中发现对醌结构以及醌和氮杂环的超共轭体系，正如靛玉红类化合物具有醌和含氮杂环的超共轭体系一样，可能是该类化合物发挥抗癌作用的关键所在。

该类化合物对肿瘤细胞有较强杀伤作用的同时，对正常细胞和组织也有相当的损伤作用，很多阿朴菲类生物碱的细胞毒作用并没有选择性。另外，部分阿朴菲类生物碱虽然具有抗癌活性，但吸收和生物利用度均较差。因此，探究该类化合物的构效关系，并进行结构修饰和筛选，得到活性更高而不良反应少和生物利用度高的细胞毒类抗癌药物，是开发新型抗癌药物的方向所在，也是近年抗癌药物筛选研究的热点。

参考文献

[1] Cragg G M, Newman D J. Nature: a vital source of leads for anticancer drug development [J]. *Phytochem Rev*, 2009, 8(2): 313-331.

[2] Kinghorn A D, Pan L, Fletcher J N, *et al*. The relevance of higher plants in lead compound discovery programs [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(6): 1539-1555.

[3] Cragg G M, Kingston D G, Newman D J. Developments and future trends in anticancer natural products drug discovery [A]. *Anticancer Agents from Natural Products* [M]. Florida: CRC Press, 2005.

[4] Newman D J, Cragg G M, Snader K M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981—2002 [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(7): 1022-1037.

[5] Guinaudeau H, Leboeuf M, Cave A. Aporphinoid alkaloids [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(8): 1033-1135.

[6] 王洪燕, 周先礼, 黄 帅, 等. 凹叶厚朴中生物碱成分的研究 [J]. 华西药学杂志, 2007, 22(1): 30-33.

[7] 彭新生, 高幼衡, 刁远明, 等. 瓜馥木的化学成分研究 (II) [J]. 中草药, 2006, 37(7): 984-985.

[8] 赵奇志, 赵毅民. 阿朴菲类生物碱生物活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(2): 316-324.

[9] Zhang A O, Zhang Y I, Alan R B, *et al*. Advances in development of dopaminergic aporphinoids [J]. *J Med Chem*, 2007, 50(2): 171-181.

[10] 程红霞, 林 强, 程维明. 苄基异喹啉类生物碱药理作用及机制的研究进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2006, 25(5): 392-399.

[11] Tran T D, Pham N B, Fechner G, *et al*. Chemical investigation of drug-like compounds from the Australian tree, *Neolitsea dealbata* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(19): 5859-5863.

[12] Da D B, Silva E C, Tulli G C, *et al*. The antitumoral, trypanocidal and antileishmanial activities of extract and alkaloids isolated from *Duguetia furfuracea* [J]. *Phytomedicine*, 2009, 16(11): 1059-1063.

[13] Shashikanth P, Sandeep C H, Antonio G S, *et al*. Cytotoxicity of aporphines in human colon cancer cell lines HCT-116 and CACO-2: An SAR study [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21(15): 4462-4464.

[14] Munoz V, Sauvain M, Mollinedo P, *et al*. Antimalarial activity and cytotoxicity of (−)-roemrefidine isolated from the stem bark of *Sparattanthelium amazonum* [J]. *Planta Med*, 1999, 65(7): 448-449.

[15] Tzeng C C, Wu Y C, Su T L, *et al*. Inhibitory effects of isoquinoline-type alkaloids on leukemic cell growth and macromolecule biosynthesis [J]. *J Med Sci*, 1990, 6(2): 58-65.

[16] Garcez F R, Da Silva A F G, Garcez W S, *et al*. Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia* [J]. *Planta Med*, 2011, 77(4): 383-387.

[17] Chen J J, Ishikawa T, Duh C Y, *et al*. New dimeric aporphine alkaloids and cytotoxic constituents of *Hernandia nymphaeifolia* [J]. *Planta Med*, 1996, 62(6): 528-533.

[18] Chen I S, Chen J J, Duh C Y, *et al*. New aporphine alkaloids and cytotoxic constituents of *Hernandia nymphaeifolia* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(2): 154-157.

[19] Liou Y F, Lin K H, Lu S T. Preparation of polysaccharides from *Fomes japonicus* (Fr.) Sacc. — screening for anti-tumor and cytotoxic substances [J]. *J Formosan Med Assoc*, 1979, 78(6): 549-557.

[20] Stévigny C, Block S, Depauw-Gillet M C, *et al*. Cytotoxic aporphine alkaloids from *Cassytha filiformis* [J]. *Planta Med*, 2002, 68(11): 1042-1044.

[21] Stévigny C, Bailly C, Quetin-Leckercq J. Cytotoxic and antitumour potentialities of aporphinoid alkaloids [J]. *Curr Med Chem Anti Cancer Agents*, 2005, 5(2): 173- 182.

[22] Woo S H, Sun N J, Cassady J M, *et al*. Topoisomerase II inhibition by aporphine alkaloids [J]. *Biochem Pharmacol*, 1999, 57(10): 1141-1145.

[23] Montenegro H, Gutierrez M, Romero L I, *et al*. Aporphine alkaloids from *Guatteria* spp. with leischmanicidal activity [J]. *Planta Med*, 2003, 69(7): 677-679.

[24] Hoet S, Stévigny C, Block S, *et al*. Alkaloids from cassytha filiformis and related aporphines: anti-trypanosomal activity, cytotoxicity, and interaction with DNA and topoisomerases [J]. *Planta Med*, 2004, 70(5): 407-413.

[25] Wright C W, Marshall S J, Russell P F, *et al*. *In vitro* antiplasmodial, antiamoebic, and cytotoxic activities of some monomeric isoquinoline alkaloids [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(12): 1638-1640.

[26] Goeren A C, Zhou B N, Kingston D G. DNA damaging activities of methanol extract of ajuga postii and iridoid glucoside reptoside [J]. *Planta Med*, 2003, 69(3): 867-868.

[27] Daniéli G, Ana P H, Mariana M G, *et al*. Boldine: a potential new antiproliferative drug against glioma cell lines [J]. *Invest New Drugs*, 2009, 27(6): 517-525.

[28] You M, Wickramaratne D B M, Silva G L, *et al*. (−)-Roemerine, an aporphine alkaloid from *Annona senegalensis* that reverses the multidrug-resistance phenotype with cultured-cells [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(4): 598-604.

[29] Kondo Y, Imai Y, Hojo H, *et al*. Suppression of tumor-cell growth and mitogen response by aporphine alkaloids, dicentrine, glaucine, corydine, and apomorphine [J]. *J Pharmacobiodyn*, 1990, 13(7): 426-431.

[30] Dang Y, Gong H F, Liu J X, *et al*. Alkaloid from *Dicranostigma leptopodum* (Maxim) fedde [J]. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(10): 1218-1220.

[31] 刘大护, 张天才, 柳军玺, 等. 秃疮花生物碱类化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(8): 1505-1508. .

[32] Wu Y C, Liou Y F, Lu S T, *et al*. Cytotoxicity of isoquinoline alkaloids and their *N*-oxides [J]. *Planta Med*, 1989, 55(2): 163-165.

[33] Emmanoel V C, Francisco D A, Maria L B P, *et al*. Chemical constituents isolated from the bark of *Guatteria blepharophylla* (Annonaceae) and their antiproliferative and antimicrobial activities [J]. *J Braz Chem Soc*, 2011, 22(6): 1111-1117.

[34] 高光耀, 杨峻山, 肖培根. 阿朴菲类二聚生物碱研究进展及展望 [J]. 国外医药: 植物药分册, 2000, 15(1): 14-17.

[35] Chen Q, Peng W L, Xu A L. Apoptosis of a human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line, PLA-801, induced by acutiaporberine, a novel bisalkaloid derived from *Thalictrum acutifolium* (Hand. -Mazz) boivin [J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 63(8): 1389-1396.

[36] Lin L Z, Hu S F, Zaw K, *et al*. Thalifaberidine, a cytotoxic aporphine-benzyl-isoquinline alkaloid from *Thalictrum faberi* [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(10): 1430-1436.

[37] Montrirattigri K, Moongkarndi P, Joongsomboonkusol S, *et al*. Apoptotic activity of aporphine from *Stephania venosa* on human ovarian cancer cells [J]. *Mahidol Univ J Pharm Sci*, 2008, 35(1/4): 52-56.

[38] Chen G, Todorov D K, Zeller W J. Antitumor activity of thaliblastine (NSC-68075) in experimental ovarian tumor cell lines sensitive and resistant to cisplatin [J]. *Cancer Lett*, 1992, 62(2): 173-177.