

苦参根中化学成分及其体外抗肿瘤活性研究

龙国清, 王东东, 胡高升, 魏江春, 王安华*, 贾景明*

沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 目的 研究苦参 *Sophora flavescens* 根的化学成分及其体外抗肿瘤活性。方法 利用大孔树脂柱色谱、硅胶柱色谱、ODS 柱色谱及半制备型 HPLC 等进行分离纯化, 结合理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构; 评估了从苦参根提取物中分离得到的 11 个化合物对人乳腺鳞状癌 HCC1806 细胞, 人乳腺癌 MCF-7 细胞, 宫颈癌 HeLa 细胞, 肺癌 A549、H1299 和 H460 细胞和人肝癌 HepG2 细胞的体外抑制活性。结果 从苦参根 70%乙醇提取物中分离得到 17 个化合物, 分别鉴定为 8-(3,3-dimethylallyl)isorhamnetin (1)、6-lavandulyl-7,4-dimethoxy-5,2-dihydroxyflavanone (2)、sophoraflavanone B (3)、5-methyl-sophoraflavanone B (4)、苦参酮 (5)、苦参醇 U (6)、去甲脱水淫羊藿黄酮 (7)、槐果碱 (8)、9 α -羟基槐果碱 (9)、槐胺碱 (10)、臭豆碱 (11)、胡椒酸 (12)、1-(4-ethylphenyl)-1,2-ethanediol (13)、丁香酸 (14)、1,2,4-苯三酚 (15)、阿魏酸 (16)、羟苣基酒石酸 (17)。其中化合物 5 对 H1299 和 H460 细胞的体外半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (22.6 $\pm$ 1.2)、(13.6 $\pm$ 0.5) μ mol/L, 其抑制效果强于阳性药顺铂。此外, 化合物 4 对 A549 细胞和化合物 5 对 MCF-7 细胞的抑制效果与阳性药相当。结论 化合物 1 为新的天然产物, 化合物 2、12~15 首次从该属中分离得到; 化合物 5 对 H1299 细胞和 H460 细胞具有较好的抑制活性。苦参中的异戊烯基黄酮在抗肿瘤药物开发与应用上有良好的发展前景。

关键词: 苦参; 抗肿瘤活性; 苦参酮; 异戊烯基黄酮; 胡椒酸; 丁香酸; 8-(3,3-dimethylallyl)isorhamnetin

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)04-0978-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.04.003

Chemical constituents of *Sophora flavescens* and its antitumor activities *in vitro*

LONG Guo-qing, WANG Dong-dong, HU Gao-sheng, WEI Jiang-chun, WANG An-hua, JIA Jing-ming

School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of Kushen (*Sophora flavescens*) and its antitumor activities *in vitro*. **Methods** The compounds were isolated and purified using macroporous resin column chromatography, silica gel column chromatography, ODS column chromatography and semi-preparative HPLC, and their structures were elucidated by means of physicochemical properties and spectroscopic analysis. And the 11 compounds were evaluated using relevant *in vitro* anti-tumor activities against breast squamous carcinoma cells (HCC1806), human breast cancer cells (MCF-7), human cervical cancer cells (HeLa), human lung cancer cells (A549, H1299 and H460), and human hepatoma cells (HepG2) *in vitro*. **Results** Seventeen compounds were isolated from 70% ethyl alcohol extract from the roots of *S. flavescens* and identified as 8-(3,3-dimethylallyl)isorhamnetin (1), 6-lavandulyl-7,4-dimethoxy-5,2-dihydroxyflavanone (2), sophoraflavanone B (3), 5-methylsophoraflavanone B (4), kurarinone (5), kushenol U (6), 8-prenylkaempferol (7), sophocarpine (8), 9 α -hydroxysophocarpine (9), sophoramine (10), anagyrine (11), piperic acid (12), 1-(4-ethylphenyl)-1,2-ethanediol (13), syringic acid (14), 1,2,4-benzenetriol (15), ferulic acid (16), and piscidic acid (17). Compound 5 showed good inhibitory activities against H1299 and H460, and its inhibitory effect was stronger than that of cisplatin with IC₅₀ values of (22.6 $\pm$ 1.2) μ mol/L and (13.6 $\pm$ 0.5) μ mol/L, respectively. In addition, the inhibitory activities of compound 4 against A549 cells and compound 5 against MCF-7 cells were comparable to that of the positive drug. **Conclusion** Among them, compound 1 is a new natural product, and compounds 2, 12—15 are isolated from genus *Sophora* for the first time. Compound 5 showed good inhibitory activities against H1299 and H460, which provide scientific

收稿日期: 2021-09-20

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC1701200); 辽宁省“兴辽英才计划”项目 (XLYC1902101)

作者简介: 龙国清 (1994—), 男, 博士, 湖南凤凰人, 主要研究方向为天然产物化学与活性研究。E-mail: sylongguoqing@163.com

*通信作者: 贾景明, 教授, 研究方向为中药资源及有效成分代谢调控。E-mail: jiajingming@163.com

王安华, 讲师, 博士, 主要从事中药及天然产物的成分分离及活性评价。E-mail: sywanganhua@163.com

basis for further research on new anti-tumor drugs of isopentenyl flavonoids in *S. flavescens*.

Key words: *Sophora flavescens* Ait.; antitumor activity; kurarinone; isopentenyl flavonoids; piperic acid; syringic acid; 8-(3,3-dimethylallyl) isorhamnetin

苦参 *Sophora flavescens* Alt. 为豆科 (Leguminosae) 苦参属多年生药用植物, 野生资源丰富, 广泛分布于我国南北各省区。在《湖南药物志》《中国民族药志要》等多个民族药学著作中记载其具有清热燥湿、散瘀止痛、解毒杀虫等功效^[1]。苦参中具有多种化学活性成分, 其中以生物碱类^[2]与黄酮类^[3]为主。现代药理研究发现, 苦参中的生物碱和黄酮具有多种生物活性, 主要包括抗糖尿病^[4-6]、抗肿瘤^[7-9]、抗炎^[10]及抗病原微生物^[11]等作用。本课题组前期从苦参根中提取分离了一系列具有良好抗肿瘤活性的化合物^[12-13], 发现苦参的化学成分在抗肿瘤药物研究中具有重要的研究价值。因此, 本实验对苦参进行了系统的化学成分研究, 从中分离得到 17 个化合物, 分别鉴定为 8-(3,3-dimethylallyl) isorhamnetin (**1**)、6-lavandulyl-7,4-dimethoxy-5,2-dihydroxyl-flavanone (**2**)、sophoraflavanone B (**3**)、5-methyl-sophoraflavanone B (**4**)、苦参酮 (kurarinone, **5**)、苦参醇 U (kushenol U, **6**)、去甲脱水淫羊藿黄素 (8-prenylkaempferol, **7**)、槐果碱 (sophocarpine, **8**)、9 α -羟基槐果碱 (9-hydroxy-sophocarpine, **9**)、槐胺碱 (3,4,5,6-tetradehydro-sparteine-2-one, **10**)、臭豆碱 (anagyrin, **11**)、胡椒酸 (heliotropic acid, **12**)、1-(4-ethylphenyl)-1,2-ethanediol (**13**)、丁香酸 (syringic acid, **14**)、1,2,4-苯三酚 (1,2,4-trihydroxybenzene, **15**)、阿魏酸 (ferulic acid, **16**)、羟苄基酒石酸 (piscidic acid, **17**)。采用 MTT 法评估了其中 11 个化合物的细胞毒活性, 结果显示, 化合物 **5** 对肺癌 H1299 细胞和 H460 细胞具有较好的抑制活性, 其抑制效果强于阳性药顺铂; 化合物 **4** 对人非小细胞肺癌 A549 细胞和化合物 **5** 对人乳腺癌 MCF-7 细胞的抑制效果与阳性药相当。

1 仪器与材料

AAPI 3200 质谱仪 (AB SCIEX 公司, Framingham, MA, 美国); Bruker 601 型核磁共振仪 (Bruker 公司, 瑞士); JASCO V-650 紫外-可见分光光度仪 (JASCO 公司, 日本); UltiMate 3000 分析型 HPLC (Thermo 公司, 美国); 制备型 HPLC (Agela 公司, 美国); Waters 2545 全自动制备型高效液相色谱仪 (Waters 公司, 美国); 硅胶 GF₂₅₄ 薄

层预制板为烟台化学工业研究所产品; 色谱硅胶 (200~300 目) 为青岛海洋化工厂产品; 制备型 C₁₈ 色谱柱 (YMC-Pack ODS-A); Waters RP C₁₈ 色谱柱 (Waters 公司, 美国); ODS 填料为日本 YMC 公司产品; 所用色谱级甲醇和乙腈均购自康科德科技有限公司。

人乳腺鳞状癌 HCC1086 细胞、MCF-7 细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞、A549 细胞、H1299 细胞、H460 细胞和人肝癌 HepG2 细胞购自中国科学院上海生物化学与细胞生物研究所, 由本实验室保存和进行传代。

实验用苦参根于 2018 年 5 月采于我国辽宁省朝阳市凌源市宋杖子镇绿源中草药种植基地, 经沈阳药科大学中药学院胡高升副教授鉴定为苦参 *S. flavescens* Ait., 标本 (SPU-2018-1014-06) 保存于沈阳药科大学中药资源教研室。

2 提取与分离

将干燥的苦参根 50 kg, 切片、粉碎, 70%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h。提取液浓缩后, 依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取, 取醋酸乙酯部位 (960 g) 经 D101 大孔柱色谱, 乙醇-水系统 (30%、50%、75%、95%) 洗脱, 合并相同部位后, 共得到 4 个流分 (Fr. 1~4)。Fr. 3 (225 g) 经硅胶柱色谱, 二氯甲烷-甲醇 (50:1~1:1) 梯度洗脱, 合并相同部位后, 共得到 14 个流分 (Fr. 3.1~3.14)。取 Fr. 3.2 (6.2 g) 过 ODS 中压色谱, 甲醇-水 (40:60~100:0, 5 h), 体积流量 15.0 mL/min, 得到 36 个流分 (Fr. 3.2.1~3.2.36); Fr. 3.2.23 经制备型 HPLC 制备, 甲醇-水 (50:50), 体积流量 8.0 mL/min, 得到化合物 **1** (11.2 mg)、**3** (15.0 mg)、**4** (9.6 mg) 和 **7** (20.2 mg)。取 Fr. 3.2.34 过羟丙基葡聚糖凝胶柱 (Sephadex LH-20), 以纯甲醇作为流动相, 得到 6 个流分 (Fr. 3.2.34.1~3.2.34.6)。Fr. 3.2.34.1 经制备型 HPLC 制备, 甲醇-水 (65:35), 体积流量 8.0 mL/min, 得到化合物 **2** (9.6 mg)。Fr. 3.2.34.4 经制备型 HPLC 制备, 甲醇-水 (63:37), 体积流量 8.0 mL/min, 得到化合物 **5** (15.6 mg) 和 **6** (24.7 mg)。取 Fr. 1 (13 g) 过 ODS 中压色谱, 甲醇-水 (10:90~100:0), 体积流量 15.0 mL/min,

得到 18 个流分 (Fr. 1.1~1.18); Fr. 1.3 经制备型 HPLC 制备, 甲醇-水 (10:90), 体积流量 8.0 mL/min, 得到化合物 **12** (10.6 mg)、**14** (13.5 mg) 和 **15** (6.9 mg)。Fr. 1.5 经制备型 HPLC 制备, 甲醇-水 (13:87), 体积流量 8.0 mL/min, 得到化合物 **13** (14.6 mg)、**16** (22.4 mg) 和 **17** (18.6 mg)。取二氯甲烷萃取部位 (410 g) 经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (100:1~0:1) 梯度洗脱, 合并相同部位后, 共得到 15 个流分 (A1~A15)。取 A14 (12 g) 过 ODS 中压色谱, 甲醇-水 (60:40~100:0, 5 h), 体积流量 15.0 mL/min, 得到 16 个流分 (A.14.1~A.14.16); A.14.8 经制备型 HPLC 制备, 甲醇-水 (75:25), 体积流量 8.0 mL/min, 得到化合物 **9** (21.1 mg); A.14.12 经制备型 HPLC 制备, 甲醇-水 (83:17), 体积流量 8.0 mL/min, 得到化合物 **8** (14.6 mg)、**10** (22.5 mg) 和 **11** (52.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 347.4 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{20}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.38 (1H, s, 5-OH), 10.73 (1H, s, 7-OH), 9.77 (1H, s, 4'-OH), 9.41 (1H, s, 2-OH), 7.74 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 7.72 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, H-6'), 6.30 (1H, s, H-6), 5.23 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-2''), 2.82 (2H, dd, $J = 17.1, 3.2$ Hz, H-1''), 1.73 (3H, s, 4''-CH₃), 1.62 (3H, s, 5''-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 176.6 (C-4), 161.6 (C-5), 158.7 (C-7), 153.9 (C-9), 149.2 (C-3'), 147.9 (C-4'), 147.0 (C-2), 136.2 (C-3), 131.2 (C-3''), 123.0 (C-2''), 122.7 (C-1'), 122.2 (C-6'), 116.0 (C-5'), 111.9 (C-2'), 106.0 (C-10), 103.5 (C-8), 98.5 (C-6), 56.0 (3'-OCH₃), 25.8 (C-5''), 21.7 (C-1''), 18.3 (C-4'')。以上数据与文献报道的数据一致^[14], 故鉴定化合物 **1** 为 8-(3,3-dimethylallyl)isorhamnetin, 经过 Scifinder 查阅发现该化合物为新的天然产物。

化合物 **2**: 黄色无定形粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 474.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{27}H_{32}O_6$, ECD λ_{max} 330 nm, $\Delta\epsilon +10$; λ_{max} 290 nm, $\Delta\epsilon -30$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.56 (1H, dd, $J = 13.8, 3.0$ Hz, H-2), 2.89 (1H, dd, $J = 16.8, 13.8$ Hz, H-3a), 2.65 (1H, dd, $J = 16.8, 3.0$ Hz, H-3b), 6.14 (1H, s, H-8), 6.50 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3'), 3.83 (3H, s, 4'-OCH₃), 6.47 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-5'), 7.39 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 2.51 (2H, m, H-1''), 2.63 (1H, m, H-2''), 2.00 (2H, m,

H-3''), 4.98 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-4''), 1.50 (3H, s, 6''-CH₃), 1.60 (3H, s, 7''-CH₃), 4.52 (1H, s, H-8''), 4.60 (1H, s, H-9''), 1.66 (3H, s, 10''-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 75.3 (C-2), 45.5 (C-3), 193.7 (C-4), 164.7 (C-5), 109.5 (C-6), 164.8 (C-7), 93.3 (C-8), 161.9 (C-9), 105.8 (C-10), 119.0 (C-1'), 160.1 (C-2'), 99.8 (C-3'), 159.0 (C-4'), 108.1 (C-5'), 128.5 (C-6'), 28.2 (C-1''), 48.2 (C-2''), 32.4 (C-3''), 124.8 (C-4''), 132.1 (C-5''), 17.9 (C-6''), 25.9 (C-7''), 149.7 (C-8''), 111.2 (C-9''), 19.1 (C-10''), 55.9 (4'-OCH₃), 55.8 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道的数据一致^[15], 故鉴定化合物 **2** 为 (2S,2S)-6-lavandulyl-7,4-dimethoxy-5,2-dihydroxyflavanone。

化合物 **3**: 黄色无定形粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 363.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{22}O_5$, ECD λ_{max} 330 nm, $\Delta\epsilon +9$; λ_{max} 290 nm, $\Delta\epsilon -55$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.41 (1H, dd, $J = 12.6, 3.0$ Hz, H-2), 3.18 (1H, dd, $J = 16.8, 12.6$ Hz, H-3a), 2.70 (1H, dd, $J = 16.8, 3.0$ Hz, H-3b), 5.97 (1H, s, H-6), 7.30 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 3.09 (2H, m, H-1''), 5.07 (1H, m, H-2''), 1.59 (3H, s, 4''-CH₃), 1.54 (3H, s, 5''-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 77.6 (C-2), 41.3 (C-3), 196.1 (C-4), 160.5 (C-5), 94.6 (C-6), 159.1 (C-7), 106.3 (C-8), 163.7 (C-9), 101.1 (C-10), 128.6 (C-1'), 127.4 (C-2', 6'), 114.5 (C-3', 5'), 156.9 (C-4'), 20.6 (C-1''), 122.0 (C-2''), 129.5 (C-3''), 16.9 (C-4''), 24.9 (C-5'')。以上数据与文献报道的数据一致^[16], 故鉴定化合物 **3** 为 sophoraflavanone B。

化合物 **4**: 黄色无定形粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 377.4 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{22}O_5$, ECD λ_{max} 330 nm, $\Delta\epsilon +12$; λ_{max} 290 nm, $\Delta\epsilon -45$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.31 (1H, dd, $J = 12.0, 3.0$ Hz, H-2), 2.90 (1H, dd, $J = 16.8, 12.0$ Hz, H-3a), 2.55 (1H, dd, $J = 16.8, 3.0$ Hz, H-3b), 6.14 (1H, s, H-6), 7.28 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.77 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 3.11 (2H, m, H-1''), 5.10 (1H, m, H-2''), 1.61 (3H, s, 4''-CH₃), 1.55 (3H, s, 5''-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 79.9 (C-2), 46.1 (C-3), 192.8 (C-4), 163.7 (C-5), 93.2 (C-6), 164.1 (C-7), 109.8 (C-8), 163.7 (C-9), 105.7 (C-10), 131.4 (C-1'), 128.7 (C-2', 6'), 116.0 (C-3', 5'), 158.6 (C-4'), 22.6 (C-1''), 123.8 (C-2''), 131.5 (C-3''), 17.7 (C-4''), 22.5 (C-5'')。以上数

据与文献报道的数据一致^[17], 故鉴定化合物 **4** 为 5-methylsophoraflavanone B。

化合物 **5**: 黄色无定形粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 461.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{26}H_{30}O_6$, ECD λ_{max} 330 nm, $\Delta\epsilon$ +13; λ_{max} 290 nm, $\Delta\epsilon$ -58。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.60 (1H, dd, J = 7.8, 2.4 Hz, H-2), 2.88 (1H, dd, J = 16.8, 3.0 Hz, H-3b), 2.71 (1H, dd, J = 16.8, 13.2 Hz, H-3a), 3.84 (3H, s, 5-OCH₃), 6.14 (1H, s, H-6), 6.30 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3'), 6.37 (1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz, H-5'), 7.32 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6'), 2.50 (2H, m, H-1''), 2.64 (1H, m, H-2''), 2.00 (2H, m, H-3''), 4.98 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-4''), 1.51 (3H, s, 6''-CH₃), 1.60 (3H, s, 7''-CH₃), 4.55 (1H, s, H-9''), 4.61 (1H, s, H-9''), 1.67 (3H, s, 10''-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 74.1 (C-2), 45.6 (C-3), 193.9 (C-4), 161.8 (C-5), 93.2 (C-6), 164.9 (C-7), 109.5 (C-8), 164.8 (C-9), 105.7 (C-10), 118.4 (C-1'), 156.7 (C-2'), 107.6 (C-3'), 159.5 (C-4'), 103.3 (C-5'), 128.5 (C-6'), 28.2 (C-1''), 48.2 (C-2''), 32.3 (C-3''), 124.8 (C-4''), 132.0 (C-5''), 17.8 (C-6''), 25.9 (C-7''), 149.7 (C-8''), 111.3 (C-9''), 19.1 (C-10''), 55.9 (5-OCH₃)。以上数据与文献报道的数据一致^[18], 故鉴定化合物 **5** 为苦参酮。

化合物 **6**: 黄色无定形粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 445.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{26}H_{30}O_5$, ECD λ_{max} 330 nm, $\Delta\epsilon$ +20; λ_{max} 290 nm, $\Delta\epsilon$ -62。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.24 (1H, dd, J = 13.2, 3.0 Hz, H-2), 2.93 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-3a), 2.64 (1H, dd, J = 16.2, 3.0 Hz, H-3b), 6.10 (1H, s, H-6), 7.32 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 2.41 (2H, m, H-1''), 2.58 (1H, m, H-2''), 1.95 (2H, m, H-3''), 4.93 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-4''), 1.56 (3H, s, 6''-CH₃), 1.60 (3H, s, 7''-CH₃), 4.56 (1H, s, H-9''), 4.46 (1H, s, H-9''), 1.47 (3H, s, 10''-CH₃), 3.80 (3H, s, 5-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 80.1 (C-2), 46.4 (C-3), 193.1 (C-4), 161.9 (C-5), 93.4 (C-6), 164.9 (C-7), 109.5 (C-8), 164.3 (C-9), 105.7 (C-10), 131.5 (C-1'), 128.9 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 158.9 (C-4'), 28.2 (C-1''), 48.5 (C-2''), 32.4 (C-3''), 124.7 (C-4''), 132.1 (C-5''), 17.9 (C-6''), 25.9 (C-7''), 149.6 (C-8''), 111.3 (C-9''), 19.1 (C-10''), 55.9 (5-OCH₃)。以上数据与文献报道的数据一致^[19], 故鉴定化合物 **6** 为苦参醇 U。

化合物 **7**: 黄色无定形粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 377.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{20}H_{18}O_6$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.23 (1H, s, H-6), 8.10 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, J = 9.0 Hz, H-3', 5'), 3.50 (2H, m, H-1''), 5.22 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-2''), 1.80 (3H, s, 4''-CH₃), 1.67 (3H, s, 5''-CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 148.0 (C-2), 137.0 (C-3), 177.6 (C-4), 160.1 (C-5), 98.7 (C-6), 162.8 (C-7), 107.6 (C-8), 160.1 (C-9), 104.5 (C-10), 124.0 (C-1'), 130.5 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 155.5 (C-4'), 22.4 (C-1''), 123.9 (C-2''), 132.4 (C-3''), 25.9 (C-4''), 18.2 (C-5'')。以上数据与文献报道的数据一致^[20], 故鉴定化合物 **7** 为去甲脱水淫羊藿黄素。

化合物 **8**: 无色油状物(甲醇)。ESI-MS m/z : 285.3 $[M+K]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{22}N_2O$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.82 (1H, m, H-2a), 2.00 (1H, m, H-2b), 1.75 (2H, m, H-3), 2.26 (1H, m, H-4a), 1.85 (1H, m, H-4b), 2.22 (1H, m, H-5), 2.70 (1H, m, H-6), 1.91 (1H, m, H-7), 1.75 (1H, m, H-8a), 1.68 (1H, m, H-8b), 1.48 (1H, m, H-9a), 1.61 (1H, m, H-9b), 2.82 (1H, m, H-10a), 2.00 (1H, m, H-10b), 3.97 (1H, m, H-11), 1.46 (1H, m, H-12a), 2.22 (1H, m, H-12b), 6.64 (1H, m, H-13), 5.81 (1H, m, H-14), 4.05 (1H, dd, J = 13.2, 4.8 Hz, H-17a), 3.15 (1H, t, J = 13.2 Hz, H-17b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 58.3 (C-2), 22.1 (C-3), 28.7 (C-4), 36.0 (C-5), 64.7 (C-6), 42.8 (C-7), 27.3 (C-8), 21.6 (C-9), 58.3 (C-10), 52.9 (C-11), 28.3 (C-12), 140.9 (C-13'), 124.2 (C-14), 167.7 (C-15), 43.1 (C-17)。以上数据与文献报道的数据一致^[21], 故鉴定化合物 **8** 为槐果碱。

化合物 **9**: 无色油状物(甲醇)。ESI-MS m/z : 285.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{22}N_2O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.82 (2H, m, H-2), 1.75 (2H, m, H-3), 2.26 (1H, m, H-4a), 1.85 (1H, m, H-4b), 2.22 (1H, m, H-5), 1.63 (1H, m, H-6), 1.91 (1H, m, H-7), 1.75 (1H, m, H-8a), 1.68 (1H, m, H-8b), 3.83 (1H, m, H-9), 3.47 (1H, m, H-10a), 4.03 (1H, m, H-10b), 1.46 (1H, m, H-11), 2.22 (2H, m, H-12), 6.62 (1H, m, H-13), 5.77 (1H, m, H-14), 4.05 (1H, dd, J = 13.2, 4.8 Hz, H-17a), 3.15 (1H, t, J = 13.2 Hz, H-17b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 54.7 (C-2), 18.5 (C-3), 24.9 (C-4), 27.1 (C-5), 61.9 (C-6), 27.1 (C-7), 23.3 (C-8), 18.2 (C-9), 54.6 (C-10), 38.8 (C-11), 32.0

(C-12), 139.4 (C-13), 123.3 (C-14), 165.2 (C-15), 49.8 (C-17)。以上数据与文献报道的数据一致^[22], 故鉴定化合物 **9** 为 9 α -羟基槐果碱。

化合物 **10**: 无色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 267.3 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{20}N_2O$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 3.78 (1H, m, H-2a), 3.22 (1H, m, H-2b), 3.22 (1H, s, H-3a), 2.25 (1H, m, H-3b), 3.22 (2H, s, H-4), 4.07 (1H, m, H-5), 4.01 (1H, m, H-6), 2.36 (1H, m, H-7), 2.36 (2H, m, H-8), 1.66 (2H, m, H-9), 3.49 (2H, m, H-10), 6.23 (H, m, H-12), 6.40 (1H, m, H-13), 7.45 (1H, m, H-14), 4.25 (1H, dd, $J = 13.2, 4.8$ Hz, H-17a), 2.63 (1H, t, $J = 13.2$ Hz, H-17b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 52.0 (C-2), 19.4 (C-3), 24.0 (C-4), 34.5 (C-5), 64.2 (C-6), 33.1 (C-7), 23.3 (C-8), 18.9 (C-9), 52.0 (C-10), 148.3 (C-11), 109.1 (C-12), 141.5 (C-13), 118.8 (C-14), 165.3 (C-15), 50.6 (C-17)。以上数据与文献报道的数据一致^[21], 故鉴定化合物 **10** 为槐胺碱。

化合物 **11**: 无色油状物 (甲醇)。ESI-MS m/z : 267.4 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{20}N_2O$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.54 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3), 7.53 (1H, dd, $J = 9.0, 1.8$ Hz, H-4), 6.41 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-5), 3.20 (1H, m, H-7), 2.26 (1H, m, H-8a), 1.64 (1H, m, H-8b), 3.68 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-9), 4.15 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-10a), 3.68 (1H, m, H-10b), 3.48 (1H, s, H-11), 2.34 (1H, d, $J = 13.8$ Hz, H-12a), 1.90 (1H, m, H-12b), 2.62 (1H, s, H-13a), 1.32 (1H, s, H-13b), 1.93 (1H, m, H-14a), 1.80 (1H, t, $J = 10.8$ Hz, H-14b), 4.07 (1H, m, H-15a), 3.18 (1H, m, H-15b), 4.07 (1H, m, H-15a), 3.48 (1H, s, H-17b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 58.3 (C-2), 22.1 (C-3), 28.7 (C-4), 36.0 (C-5), 64.7 (C-6), 42.8 (C-7), 27.3 (C-8), 21.6 (C-9), 58.3 (C-10), 52.9 (C-11), 28.3 (C-12), 140.9 (C-13), 124.2 (C-14), 167.7 (C-15), 43.1 (C-17)。以上数据与文献报道的数据一致^[23], 故鉴定化合物 **11** 为臭豆碱。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 198.7 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_8H_6O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.36 (1H, s, H-2), 6.99 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 7.53 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 6.12 (2H, s, -OCH₂O), 12.75 (1H, s, -OH); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 125.1 (C-1), 108.9 (C-2), 147.6 (C-3), 151.2 (C-4), 108.2 (C-5), 124.9 (C-6), 101.3

(OCH₂O), 166.8 (COOH)。以上数据与文献报道的数据一致^[24], 故鉴定化合物 **12** 为胡椒酸。

化合物 **13**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 189.1 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{10}H_{14}O_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.19 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2, 6), 7.09 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-3, 5), 5.16 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, 7-OH), 4.68 (1H, t, $J = 5.8$ Hz, 8-OH), 4.49 (1H, dd, $J = 10.3, 5.9$ Hz, H-8a), 3.37 (1H, m, H-8b), 2.60 (2H, m, H-9), 1.17 (3H, t, $J = 7.6$ Hz, H-10); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 143.4 (C-4), 143.1 (C-1), 127.7 (C-3, 5), 125.6 (C-2, 6), 73.9 (C-7), 67.5 (C-8), 28.2 (C-9), 15.6 (C-10)。以上数据与文献报道的数据一致^[25], 故鉴定化合物 **13** 为 1-(4-ethylphenyl)-1,2-ethanediol。

化合物 **14**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 221.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_9H_{10}O_5$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.33 (2H, s, H-2, 6), 3.88 (3H, s, 3, 5-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 169.9 (COOH), 148.8 (C-3, 5), 141.70 (C-4), 122.0 (C-1), 108.3 (C-2, 6), 56.7 (3, 5-OCH₃)。以上数据与文献报道的数据一致^[26], 故鉴定化合物 **14** 为丁香酸。

化合物 **15**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 149.3 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_6H_6O_3$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.52 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6), 6.55 (1H, dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, H-5), 6.27 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 140.9 (C-1), 151.2 (C-2), 107.9 (C-3), 152.8 (C-4), 110.2 (C-5), 121.3 (C-6)。以上数据与文献报道的数据一致^[27], 故鉴定化合物 **15** 为 1,2,4-苯三酚。

化合物 **16**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 217.4 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{10}H_{10}O_4$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.14 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.02 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 6.68 (1H, dd, $J = 8.6, 1.8$ Hz, H-6), 7.55 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-7), 6.32 (1H, d, $J = 16.8$ Hz, H-8), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 126.2 (C-1), 111.6 (C-2), 149.5 (C-3), 148.3 (C-4), 115.9 (C-5), 121.3 (C-6), 144.9 (C-7), 116.0 (C-8), 168.5 (C-9), 56.2 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道的数据一致^[28], 故鉴定化合物 **16** 为阿魏酸。

化合物 **17**: 白色粉末 (甲醇)。ESI-MS m/z : 279.2 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{12}O_7$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 4.52 (1H, s, H-2), 3.14 (1H, d, $J = 13.9$ Hz, H-3a), 2.99 (1H, d, $J = 13.9$ Hz, H-3b), 7.07 (2H,

d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.66 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 174.9 (C-1), 76.3 (C-2), 81.4 (C-3), 42.0 (C-4), 175.8 (C-5), 128.0 (C-1'), 132.5 (C-2', 6'), 115.7 (C-3', 5'), 157.2 (C-4')。以上数据与文献报道的数据一致^[29], 故鉴定化合物 17 为羟苕基酒石酸。

4 抗肿瘤活性测试

采用 MTT 法评估了从苦参根提取物中分离得到的 7 个异戊烯基黄酮 (1~7) 和 4 个生物碱 (8~

11) 分别对人肿瘤细胞的生长抑制作用, 结果见表 1。实验对 HepG2、HeLa 2 种细胞选择 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 作为阳性药, 对 H460、A549、H1299、HCC1806、MCF-7 细胞选择顺铂作为阳性药, 结果显示, 4 种生物碱对肿瘤细胞均无抑制作用, 7 种异戊烯基黄酮对肿瘤细胞均表现出较强的抑制作用, 其中化合物 5 对 H1299 和 H460 具有良好的抑制活性, 其抑制效果强于阳性药顺铂。化合物 4 对 A549 和化合物 5 对 MCF-7 的抑制效果与阳性药相当。

表 1 化合物 1~11 对肿瘤细胞的抑制作用
Table 1 Anti-tumor activities of compounds 1—11

化合物	$\text{IC}_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$						
	A549	H1299	H460	HCC1806	MCF-7	HepG2	HeLa
1	26.3 ± 0.9	60.1 ± 1.5	28.3 ± 1.5	66.7 ± 2.2	61.5 ± 1.7	45.8 ± 2.1	48.5 ± 1.1
2	47.6 ± 2.2	70.8 ± 0.6	54.2 ± 2.5	78.3 ± 1.5	69.1 ± 1.2	60.5 ± 3.3	51.3 ± 4.6
3	20.1 ± 1.2	58.2 ± 1.6	24.2 ± 0.6	56.7 ± 1.3	59.4 ± 1.3	39.5 ± 1.5	44.9 ± 1.8
4	15.2 ± 1.3	49.2 ± 1.8	68.4 ± 1.6	71.2 ± 0.9	55.2 ± 2.5	29.8 ± 0.8	67.8 ± 1.6
5	25.2 ± 0.8	22.6 ± 1.2	13.6 ± 0.5	49.5 ± 1.1	18.6 ± 0.8	35.1 ± 1.9	32.8 ± 0.9
6	30.5 ± 2.5	37.8 ± 4.1	26.6 ± 1.3	52.7 ± 1.8	82.3 ± 1.9	93.4 ± 1.6	97.2 ± 1.2
7	36.4 ± 2.6	55.2 ± 1.6	35.9 ± 2.2	69.9 ± 5.5	75.1 ± 2.3	37.5 ± 3.8	39.4 ± 3.3
8	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
9	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
10	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
11	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
5-FU	/	/	/	/	/	14.5 ± 1.2	15.9 ± 0.2
顺铂	12.6 ± 1.2	24.5 ± 1.0	18.2 ± 1.1	33.2 ± 0.8	16.2 ± 1.2	/	/

5 讨论

苦参为我国传统中药, 用药历史悠久。苦参中的活性成分主要为生物碱类和黄酮类化合物, 而黄酮类化合物主要以二氢黄酮为主。在结构解析方面, 本研究运用一维核磁 (^1H -NMR、 ^{13}C -NMR) 确定二氢黄酮化合物 (2~6) 的平面构型, 并用 ECD 谱的 Cotton 效应来确定化合物 2 位手性碳的绝对构型, 即在 280~300 nm 为负 Cotton 效应, 且在 320~340 nm 为正 Cotton 效应, 则表明二氢黄酮的 2 位碳为 *S* 型; 若在 280~300 nm 为正 Cotton 效应, 且在 320~340 nm 为负 Cotton 效应, 则表明二氢黄酮的 2 位碳为 *R* 型^[30], 这大大提高了化合物结构解析的准确性。大量的药理研究发现, 苦参中的化合物具有良好的抗肿瘤活性, 在体外活性筛选方面, 本研究发现在相同给药剂量浓度下异戊烯基黄酮类化合物比生物碱具有更好的抗肿瘤活性, 为进一步研究抗肿瘤药物提供一定的借鉴意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 211.

- [2] Li J C, Zhang Z J, Liu D, *et al.* Quinolizidine alkaloids from the roots of *Sophora flavescens* [J]. *Nat Prod Res*, 2020: 1-8.
- [3] Ma J Y, Zhao D R, Yang T, *et al.* Prenylflavanones isolated from *Sophora flavescens* [J]. *Phytochem Lett*, 2019, 29: 138-141.
- [4] Yan H W, Zhu H, Yuan X, *et al.* Eight new biflavonoids with lavandulyl units from the roots of *Sophora flavescens* and their inhibitory effect on PTP1B [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 86: 679-685.
- [5] Kim J H, Cho C W, Kim H Y, *et al.* A-Glucosidase inhibition by prenylated and lavandulyl compounds from *Sophora flavescens* roots and *in silico* analysis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 102: 960-969.
- [6] Yang X Z, Yang J, Xu C, *et al.* Antidiabetic effects of flavonoids from *Sophora flavescens* EtOAc extract in type 2 diabetic KK-ay mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 171: 161-170.
- [7] Chung T W, Lin C C, Lin S C, *et al.* Antitumor effect of kurarinone and underlying mechanism in small cell lung carcinoma cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 6119-6131.

- [8] 张明发. 苦参碱抗肝癌药理作用及临床应用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(1): 157-165.
- [9] 张元元, 李旭, 廖子君, 等. 基于网络药理学预测苦参治疗肝癌的分子机制 [J]. 世界中医药, 2021, 16(5): 751-757.
- [10] Ma A L, Yang Y Y, Wang Q Y, *et al.* Anti-inflammatory effects of oxymatrine on rheumatoid arthritis in rats via regulating the imbalance between Treg and Th17 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 3615-3622.
- [11] Yu N, He L, Liu N, *et al.* Antimicrobial action of an endophytic fungi from *Sophora flavescens* and structure identification of its active constituent [J]. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 2014, 28(2): 327-332.
- [12] Long G Q, Hu G S, Gao X X, *et al.* Sophoranone A and B: Two new cytotoxic prenylated metabolites and their analogs from the root bark of *Sophora flavescens* [J]. *Nat Prod Res*, 2021, doi: 10.1080/14786419.2021.1894562.
- [13] Long G Q, Wang D D, Wang J, *et al.* Chemical constituents of *Sophora flavescens* Ait. and cytotoxic activities of two new compounds [J]. *Nat Prod Res*, 2020, 36(1): 1-6.
- [14] Nemoto H, Kawamura T, Hayashi M, *et al.* An efficient method for C8-prenylation of flavonols and flavanones [J]. *Synthesis*, 2012, 44(9): 1308-1314.
- [15] Cao D D, Trinh T T V, Mai H D T, *et al.* Antimicrobial lavandulylated flavonoids from a sponge-derived *Streptomyces* sp. G248 in east Vietnam sea [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(9): E529.
- [16] 赵玉英, 王邠, 雷黎明, 等. 苦参黄酮类成分的研究 [J]. 植物学报, 1993, 35(4): 304-306.
- [17] Kang S S, Kim J S, Son K H, *et al.* A new prenylated flavanone from the roots of *Sophora flavescens* [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71(5): 511-515.
- [18] Kuroyanagi M, Arakawa T, Hirayama Y, *et al.* Antibacterial and antiandrogen flavonoids from *Sophora flavescens* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(12): 1595-1599.
- [19] Wu L J, Miyase T, Ueno A, *et al.* Studies on the constituents of *Sophora flavescens* Ait. iii [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1985, 105(8): 736-741.
- [20] Komatsu M, Tomimori T, Hatayama K, *et al.* Isolation and structure of new flavonoids, sophoradichromene and *Sophorano chromene* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1970, 18(4): 741-745.
- [21] Okuda S, Murakoshi I, Kamata H, *et al.* Studies on lupin alkaloids. I. the minor alkaloids of Japanese *Sophora flavescens* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1965, 13(4): 482-487.
- [22] 邸大琳, 李法庆, 陈蕾, 等. 苦参体外抑菌作用的研究 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 1974.
- [23] Bohlmann F, Rahtz D, Arndt C. Lupinen-alkaloide, XI. Die alkaloide aus *Sophora flavescens* [J]. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1958, 91(10): 2189-2193.
- [24] 程凡, 徐帮, 郭玲芝, 等. 宜昌润楠中酚类成分的研究 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2012, 46(6): 695-699.
- [25] Yang W Q, Qin X D, Shao H J, *et al.* New phenyl-ethanediols from the culture broth of *Boletus edulis* [J]. *J Basic Microbiol*, 2007, 47(2): 191-193.
- [26] Nguyen N T, Tran T T T, Dang P H, *et al.* A new 8, 3'-neolignan from *Solanum procumbens* Lour [J]. *Nat Prod Res*, 2021, doi: 10.1080/14786419.2021.1916746.
- [27] 姚学军, 孟素蕊, 王喆. 泽漆的化学成分及其抗肿瘤转移活性研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(6): 826-829.
- [28] 毕跃峰, 郑晓珂, 冯卫生, 等. 卷柏中化学成分的分离与结构鉴定 [J]. 药学学报, 2004, 39(1): 41-45.
- [29] Masayukui T, Akiko K, Makio S, *et al.* Piscidic acid and fukiic acid esters from *Cimicifuga simplex* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(7): 2115-2119.
- [30] Gaffield W. Circular dichroism, optical rotatory dispersion and absolute configuration of flavanones, 3-hydroxyflavanones and their glycosides: Determination of aglycone chirality in flavanone glycosides [J]. *Tetrahedron*, 1970, 26(17): 4093-4108.

[责任编辑 王文倩]