

• 综 述 •

蛇足石杉主要活性成分及其生物合成研究进展

李籽杉^{1,2}, 安周捷², 王 婧¹, 田 亚², 徐志超^{1,2}, 段宝忠^{1*}

1. 大理大学药学院, 云南 大理 671000

2. 东北林业大学生命科学院, 黑龙江 哈尔滨 150000

摘 要: 蛇足石杉 *Huperzia serrata* 为我国珍稀濒危药用植物, 可供利用的资源极其有限, 其所含石杉碱甲对治疗阿尔茨海默病、改善学习记忆等具有显著的疗效。对蛇足石杉的主要活性成分进行系统综述, 基于现有研究推导了其活性成分可能的生物合成途径, 为其资源开发利用和活性成分的生物合成提供科学参考。

关键词: 蛇足石杉; 石松生物碱; 石杉型三萜; 石杉碱甲; 生物合成; 转录组学

中图分类号: R282.710.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)11-3505-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.11.029

Active compounds and their biosynthesis of *Huperzia serrata*LI Zi-shan^{1,2}, AN Zhou-jie², WANG Jing¹, TIAN Ya², XU Zhi-chao^{1,2}, DUAN Bao-zhong¹

1. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

2. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin 150000, China

Abstract: Due to the extremely limited resources available, *Huperzia serrata* is a rare and endangered medicinal plant in China. Moreover, clinical studies have shown that huperzine A from *H. serrata* is highly effective in treatment of Alzheimer's disease and improving learning and memory abilities. Active compounds from *H. serrata* were reviewed in this paper, and the possible biosynthetic pathway of active compounds of *H. serrata* were concluded, in order to provide scientific reference for exploitation and utilization of its resources and biosynthesis of its active ingredients.

Key words: *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trevis.; lycopodium alkaloids; serratene triterpenoids; huperzine A; biosynthesis; transcriptomics

蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb. ex Murray) Trevis. 为石杉科石杉属多年生蕨类植物, 又名千层塔、蛇交子、铁板草、矮罗汉等, 为国家二级保护植物, 主要分布于长江流域、云南、贵州、东北及两广地区。其药用始载于《植物名实图考》, 以全草入药, 用于跌打损伤、内伤出血、瘀血肿痛、烧伤烫伤、毒虫叮咬、肌肉痉挛等^[1], 是生产石杉碱甲片、石杉碱甲注射液和石杉碱甲胶囊等药物的重要原料。自然状态下, 蛇足石杉为一种小型蕨类植物, 植株矮小, 生长缓慢, 其孢子萌发所需时间长达 15

年^[2-3], 而长期掠夺式的采挖导致野生蛇足石杉锐减, 可供利用的资源极其有限, 无法满足市场需求^[4]。现代研究表明, 其化学成分主要为生物碱和三萜类成分, 这 2 类成分与其他植物相比具有独特的结构特点, 其中石杉碱甲是一种高效的乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 抑制剂, 主要用于阿尔茨海默病、老年患者术后认知和重症肌无力等疾病的治疗, 亦可用于改善学习记忆能力^[5-6], 已成为国际生物合成和有机合成研究的热点化合物, 但由于植物体内石杉碱甲含量甚微, 仅 0.006% 左右, 随

收稿日期: 2022-02-25

基金项目: 云南省院士专家工作站 (202105AF150053); 云南省重大科技专项 (202002AA100007); 云南省兴滇英才支持计划项目 (YNWR-QNBJ-2020251)

作者简介: 李籽杉 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药资源与鉴定。E-mail: lzs6623@163.com

*通信作者: 段宝忠, 教授, 研究方向为中药资源与种质创新。Tel: (0872)2257411 E-mail: bzduan@126.com

着工业需求量不断加大, 由于石杉碱甲开环的吡啶酮环和六氢吡啶环结构的复杂性, 其全合成路线开发工艺难度极大, 合成成本远高于植物提取^[7]; 在迄今已合成的 100 多种石杉碱甲类似物中, 其抑酶活性大多不如天然石杉碱甲^[8], 导致石杉碱甲市场价格昂贵。随着合成生物学及代谢工程技术的飞速发展, 开展生物转化或半化学合成为石杉碱甲生产提供了新的途径, 但蛇足石杉三萜类和生物碱类化合物生物合成及代谢调控研究起步较晚, 其生物合成信息相对有限, 其综述文章多关注于化学成分、药理作用和石杉碱甲的生物合成等方面^[9-11], 蛇足石杉的组学研究呈现快速发展趋势, 对其活性成分生物合成途径解析及合成生物学应用具有巨大推动作用。本文对蛇足石杉的主要活性成分进行了系统综述, 基于现有研究推导了其活性成分可能的生物合成途径, 以期对蛇足石杉科学研究和实践应用提供理论支撑。

1 活性成分

目前已从蛇足石杉中分离鉴定出包括生物碱

类、三萜类、黄酮类等化学成分。其中生物碱和三萜类是其主要成分。目前已从蛇足石杉中分离到生物碱类 137 种、三萜类 69 种以及其他化合物 13 种。

1.1 石松生物碱类

目前, 从蛇足石杉中分离鉴定的生物碱成分超过 130 个, 主要以石松生物碱为主, 多数为 $C_{16}N$ 或 $C_{16}N_2$ 骨架组成的三环或四环结构, 少数为 $C_{27}N_3$ 或少于 C_{16} ^[11]。按结构类型, 其所含生物碱可分为 fawcettimine 型、lycopodine 型、lycodine 型、miscellaneous 型 4 种类型^[10,12], 其母核结构如图 1 所示。该类化合物主要具有抗 AChE、细胞毒、抗炎和免疫抑制等作用。有关蛇足石杉的生物碱影响因素, 已有研究表明, 野生蛇足石杉引种至同一生物环境后, 石杉碱甲的含量基本保持不变, 提示含量高低是遗传因素与环境条件共同作用的结果, 但更受遗传因素控制^[13-14]; 此外, 研究显示不同生长阶段的石杉碱甲的含量差异显著, 表现为幼苗>幼株>成株, 且与年降雨量呈负相关^[15], 叶片中石杉碱甲和石杉碱乙的含量普遍高于根和茎^[16]。

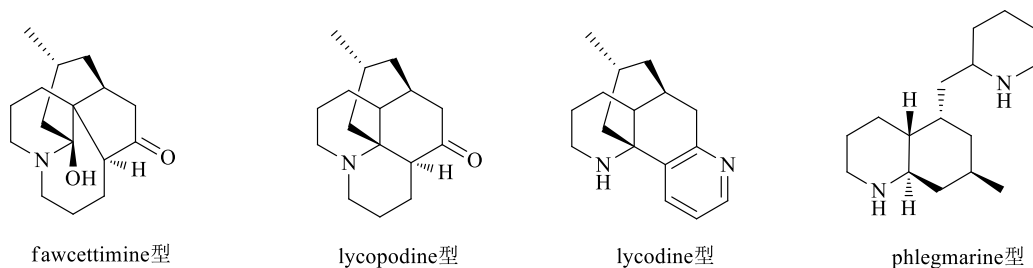


图 1 4 种类型石松生物碱的母核

Fig. 1 Parent nucleus of four types of lycopodium alkaloids

1.1.1 fawcettimine 型生物碱 该类生物碱是蛇足石杉中最丰富的一类, 目前已从蛇足石杉中分离到 60 个 fawcettimine 型化合物 (1~60), 约占蛇足石杉已分离到生物碱总数的 50% 以上。该类型生物碱结构变化多样, 通常具有 7/5/6/6 四环结构, 根据 C_{13} 位所连官能团可分为醇胺式和酮胺式^[17], 包括 fawcettimine 和 huperserine A~D 等, 相关化合物信息见表 1。该类化合物抗 AChE 活性较低, huperserine A~D 对 AChE 无抑制作用^[18]。

1.1.2 lycopodine 型生物碱 该类型生物碱在蛇足石杉中的数量仅次于 fawcettimine 型, 其母核一般为 6/6/6/6 四环结构, 其排列方式与 fawcettimine 型生物碱相似, 根据 C_{12} 位氧化态的不同可分为 lycopodine 型和 lycodine 型^[17], 包括 6 α ,11 α -

dihydroxy-lycopodine、lycoposerramine K、huperzine O 等化合物^[50], 目前该类生物碱的活性研究报道较少, 相关化合物信息见表 2。

1.1.3 lycodine 型生物碱 该类型生物碱生物碱母核一般为含吡啶的 6/6/6/6 四环结构, 偶有 C_9 - C_{10} 断裂的三环结构, 其分子式大多为 $C_{16}N_2$ 或 $C_{15}N_2$ ^[61]。lycodine 型生物碱大多都具有抗 AChE 活性^[62], 如最具 AChE 抑制活性的 huperzine A, 以及活性较强的 huperzine B、huperserine E 和 6 β -羟基石杉碱甲均属 lycodine 型石松生物碱。目前从蛇足石杉中仅分离到 18 个该类化合物, 其研究主要集中在石杉碱甲类似物的人工合成和结构改造方面, 药效作用机制还有待继续深入研究。相关化合物信息见表 3。

1.1.4 miscellaneous 型生物碱 miscellaneous 型生

表 1 蛇足石杉中 fawcettimine 型石松生物碱

Table 1 Fawcettimine-type lycopodium alkaloids from *H. serrata*

编号	化合物名称	分子式	文献	编号	化合物名称	分子式	文献
1	2 α -hydroxyphlegmariurine B	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	19	29	千层塔碱 (serratine)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	30
2	7 α -hydroxyphlegmariurine B	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	22	30	dihydrolycopoclavamine A	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	31
3	7 α ,11 α -dihydroxyphlegmariurine	C ₁₆ H ₂₃ NO ₄	20	31	千层塔宁碱 (serratinine)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	32
4	8 α -羟基马尾杉碱乙 (8 α -hydroxyphlegmariurine B)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	21	32	千层塔尼定碱 (serratinidine)	C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₂	33
5	8 β -羟基马尾杉碱乙 (8 β -hydroxyphlegmariurine B)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	22	33	serratezomine A	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	34
6	8-deoxy-13-dehydroserratinine	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	23	34	serratezomine B	C ₁₆ H ₂₅ NO ₄	34
7	lycoposerramine A	C ₁₈ H ₂₉ N ₃ O ₂	24	35	石杉碱 I (huperzine I)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	35
8	lycoposerramine C	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	25	36	蛇足石杉新碱 (neohuperzine)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	36
9	lycoposerramine D	C ₁₇ H ₂₅ NO ₃	26	37	马尾杉碱甲 (phlegmariurine A)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	19
10	lycoposerramine E	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	25	38	马尾杉碱乙 (phlegmariurine B)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	19
11	lycoposerramine P	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	25	39	2-oxophlegmariurine B	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	19
12	lycoposerramine Q	C ₁₆ H ₂₅ NO	25	40	11-oxophlegmariurine B	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	19
13	lycoposerramine S	C ₁₇ H ₃₀ N ₂	25	41	macleanine	C ₁₆ H ₂₆ N ₂	37
14	lycoposerramine U	C ₁₇ H ₂₅ NO ₃	25	42	7-过氧羟基马尾杉碱乙 (7-hydroperoxyphlegmariurine B)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₄	38
15	lycoposerramine R	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O	27	43	11 α -过氧羟基马尾杉碱乙 (11 α -hydroperoxyphlegmariurine B)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₄	38
16	lycoposerramine T	C ₂₀ H ₂₉ NO ₅	27	44	石杉碱 W (huperzine W)	C ₁₄ H ₂₁ NO ₂	39
17	N-methyl-lycoposerramine T	C ₂₁ H ₃₁ NO ₅	27	45	石杉碱 P (huperzine P)	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	18
18	N-formyl-lycoposerramine T	C ₂₁ H ₂₉ NO ₆	27	46	石杉碱 Q (huperzine Q)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	40
19	法氏石松碱 (fawcettimine)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	27	47	石杉碱 R (huperzine R)	C ₁₅ H ₂₁ NO ₃	41
20	石杉碱 S (huperzine S)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	28	48	石杉碱 H (huperzine H)	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	42
21	石杉碱 T (huperzine T)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	28	49	4 α -hydroxy-2,13-oxidofacettimine	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	43
22	11 α -羟基佛石松碱 (11 α -hydroxy-fawcettidine)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	29	50	8-去氧千层塔宁碱 (8-deoxy-serratinine)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	44
23	2 α ,11 α -二羟基佛石松碱 (2 α ,11 α -dihydroxy-fawcettidine)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	29	51	huperserratinine	C ₂₅ H ₃₃ NO ₅	45
24	8 α ,11 α -二羟基佛石松碱 (8 α ,11 α -dihydroxy-fawcettidine)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	29	52	N-oxyhuperzine Q	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	46
25	2 β -羟基石松丢宁碱 (2 β -hydroxy-lycothunine)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	29	53	huperserine A	C ₁₆ H ₂₄ NO ₂	47
26	8 α -羟基石松丢宁碱 (8 α -hydroxy-lycothunine)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	29	54	huperserine B	C ₁₇ H ₂₆ NO ₂	47
27	石松丢宁碱 (lycothunine)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	29	55	huperserine C	C ₁₆ H ₂₃ NO	47
28	千层塔他尼定碱 (serratanidine)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₄	29	56	huperserine D	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	47
				57	huperzimine	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O	48
				58	huperzine Y ₁	C ₁₆ H ₂₄ NO ₃	49
				59	huperzine Y ₂	C ₁₅ H ₂₂ NO ₄	49
				60	huperzine Y ₃	C ₁₆ H ₂₄ NO ₃	49

物碱是其他类型石松生物碱的统称, 该类型生物碱在蛇足石杉中数量较少, 又可分为 phlegmarine 型、lucidine 型、氮杂十二元环型及其他 4 种类型, 其中以 phlegmarine 型生物碱数量相对较多, phlegmarine

型结构中的 C₄-C₁₃ 键一般断裂形成 C₄ 位为亚甲基的三环生物碱。相关化合物信息见表 4。

1.2 三萜类

蛇足石杉中所含的三萜类化合物, 又称石杉型三

表2 蛇足石杉中 lycopodine 型石松生物碱

Table 2 Lycopodine-type lycopodium alkaloids from *H. serrata*

编号	化合物名称	分子式	文献	编号	化合物名称	分子式	文献
61	6 α ,11 α -二羟基石松碱 (6 α ,11 α -dihydroxy-lycopodine)	C ₁₆ H ₂₆ NO ₃	50	81	lycposerramine N	C ₁₈ H ₂₇ NO ₄	55
62	5 β ,6 β ,15 α -15-甲基石松碱-5,6-二醇 (5 β ,6 β ,15 α -15-methyllycopodane-5,6-diol)	C ₁₆ H ₂₇ NO ₂	51	82	lycposerramine O	C ₂₈ H ₃₉ NO ₆	55
63	12 β -12-羟基石杉碱 G (12 β -12-hydroxy-huperzine G)	C ₁₈ H ₂₆ N ₂ O ₄	51	83	lycodoline	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	54
64	12-脱氧石杉碱 O (12-deoxyhuperzine O)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	23	84	6 α -hydroxy-lycopodine	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	54
65	6 α -羟基-5,15-氧化石松碱 (6 α -hydroxy-5,15-oxidelycopodane)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	23,43	85	serratezomine C	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	34
66	2 α -hydroxy-lycoflexine	C ₁₇ H ₂₅ NO ₃	43	86	4 α ,6 α -dihydroxy-serratidine	C ₁₆ H ₂₃ NO ₄	56
67	N-氧化石杉碱 E (N-oxidehuperzine E)	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	52	87	4 α -hydroxy-serratidine	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	56
68	N-氧化石杉碱 F (N-oxidehuperzine F)	C ₁₆ H ₂₁ NO ₄	52	88	6 α -hydroxy-serratidine	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	56
69	2-氯代石杉碱 E (2-chlorohuperzine E)	C ₁₆ H ₂₀ ClNO ₂	53	89	serratidine	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	56
70	石杉碱 E' (huperzine E')	C ₁₆ H ₁₉ NO ₂	53	90	石杉碱 E (huperzine E)	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	39
71	石杉碱 F' (huperzine F')	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	53	91	石杉碱 F (huperzine F)	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	52
72	石松碱 (lycopodine)	C ₁₆ H ₂₅ NO	54	92	石杉碱 O (huperzine O)	C ₁₆ H ₂₃ NO ₃	57
73	lycposerramine F	C ₁₆ H ₂₅ NO ₄	55	93	石松洛宁 (clavolonine)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	58
74	lycposerramine G	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	55	94	石杉碱庚 (huperzine G)	C ₁₈ H ₂₆ N ₂ O ₃	26
75	lycposerramine H	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	55	95	石松文碱 (lycoclavine)	C ₁₈ H ₂₉ NO ₃	32
76	lycposerramine I	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	55	96	亮石松灵 (lucidioline)	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	59
77	lycposerramine J	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	55	97	4 α ,6 α -dihydroxy-lycopodine/(6 α ,15 R)-4,6-dihydroxy-15-methyllycopodan-5-one	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	60
78	lycposerramine K	C ₁₆ H ₂₃ NO ₂	55	98	7-hydroxy-lycopodine/(15 S)-7-hydroxy-15-methyllycopodan-5-one	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	60
79	lycposerramine L	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	55	99	12-epilycodoline N-oxide/(12 α ,15 R)-12-hydroxy-15-methyllycopodan-5-one N-oxide	C ₁₆ H ₂₅ NO ₃	60
80	lycposerramine M	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	55	100	7 α -hydroxy-lycopodine	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	58

表3 蛇足石杉中 lycodine 型石松生物碱

Table 3 Lycodine-type lycopodium alkaloids from *H. serrata*

编号	化合物名称	分子式	文献	编号	化合物名称	分子式	文献
101	石松定碱 (lycodine)	C ₁₆ H ₂₂ N ₂	44	109	蛇足石杉碱 (huperzine)	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O	65
102	石杉碱甲 (huperzine A)	C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O	26	110	异福定碱 (isofordine)	C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O	64
103	石杉碱乙 (huperzine B)	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O	26	111	N-demethylhuperzine	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O	66
104	石杉碱 U (huperzine U)	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂	28	112	β -obscurine	C ₁₇ H ₂₄ N ₂ O	66
105	6 β -羟基石杉碱甲 (6 β -hydroxy-huperzine A)	C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₂	63	113	蛇足石杉碱丙 (huperzine C)	C ₁₆ H ₂₄ N ₂	67
106	马尾松碱 M (phlegmariurine M)	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃	64	114	de-N-methyl-obscurine	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O	54
107	N-甲基石杉碱甲 (N-methyl-huperzine A)	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O	63	115	huperserine E	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₃	47
108	N-甲基石杉碱乙 (N-methyl-huperzine B)	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O	65	116	N-methyl-16-hydroxy-huperzine B	C ₁₇ H ₂₂ N ₂ O ₂	63
				117	1-甲基石松嵩碱 (1-methyllycodine)	C ₁₇ H ₂₄ N ₂	63
				118	8 α -hydroxy-15,16-dehydro-des-N-methyl- α -obscurine	C ₁₆ H ₂₂ N ₂ O ₂	63

表 4 蛇足石杉中 miscellaneous 型石松生物碱

Table 4 Miscellaneous-type lycopodium alkaloids from *H. serrata*

编号	类型	化合物名称	分子式	文献
119	phlegmarine 型	serratezomine E	C ₁₈ H ₃₂ N ₂ O	68
120		石杉碱 J (huperzine J)	C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O	69
121		石杉碱 K (huperzine K)	C ₁₆ H ₂₈ N ₂ O	69
122		石杉碱 L (huperzine L)	C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O ₂	69
123		石杉碱 M (huperzine M)	C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O ₂	70
124		石杉碱 N (huperzine N)	C ₁₆ H ₂₈ N ₂ O	70
125		lycoposerramine X	C ₁₆ H ₂₈ N ₂ O	71
126	lucidine 型	lycoposerramine Y	C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O	71
127		lycoposerramine Z	C ₁₆ H ₂₈ N ₂ O	71
128		serratezomine D	C ₂₉ H ₄₉ N ₃ O	68
129		石杉碱 V (huperzine V)	C ₂₈ H ₄₇ N ₃ O	72
130		serratanine A/lucidine B	C ₃₀ H ₄₉ N ₃ O	73
131		serratanine B/oxolucidine B	C ₃₀ H ₄₉ N ₃ O ₂	73
132		hyperserratine A	C ₁₇ H ₂₈ N ₂ O ₃	12
133	氮杂十二元环型	hyperserratine B	C ₁₇ H ₂₈ N ₂ O ₃	12
134		蛇足石杉碱乙 (huperzine B)	C ₁₀ H ₁₅ NO	74
135		马尾杉碱 N (phlegmariurine N)	C ₁₁ H ₁₁ NO	75
136		(+)-huperzine Z	C ₁₁ H ₁₂ NO ₂	49
137	其他	(-)-huperzine Z	C ₁₁ H ₁₂ NO ₂	49

萜、锯齿石松烷三萜，是石松目植物三萜类物质的代表成分，其化学结构属特殊五环三萜，且骨架 C 环为七元环结构，C 环的 C₂₇ 化学位移一般在 δ_c 56 左右，C₁₄-C₁₅ 位大多形成双键结构，或形成 C_{14 β} -C_{15 β} 环氧结构，有些化合物的 C₁₆ 位为羰基，与 C₁₄ 和 C₁₅ 位的双键形成共轭体系；此外 C₃ 和 C₂₁ 位一般分别有 1 个含氧官能团，按骨架上含氧官能团的数量，可分为二醇类、三醇类、多醇类和其他结构 4 种类型^[9,76]。目前已从蛇足石杉中分离得到千层塔尼醇、16 氧千层塔三醇、千层塔萜二醇、21 氧千层塔萜烯三醇和千层塔三醇等 70 多种^[77-78]。此外，从蛇足石杉中还分离到一些有特殊药理活性的石杉型三萜，如 serratenediol 已被证实具有诱导人白血病细胞 HL-60 凋亡和抑制细胞增殖的作用^[79]。相关化合物信息见表 5。

1.3 其他成分

除上述成分以外，蛇足石杉中还分离到黄酮类、甾醇类、二萜类、蒽醌类、醇类等化学成分^[84,86]。其中黄酮类物质主要为黄酮类和黄酮醇类^[84,86]。相关化合物信息见表 6。

2 生物合成

2.1 转录组学研究

目前，蛇足石杉的转录组学研究主要以 2、3 代或两者结合技术手段进行。Luo 等^[89]基于表达序列标签 (expressed sequence tag, EST) 分析，从其根、茎、叶中获得 140 930 条 ESTs，并注释了 16 274 个转录本，其中 182 个参与植物激素代谢，115 个参与生物碱、三萜和黄酮类成分的生物合成调控；通过差异表达分析筛选到 20 个编码细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 的转录本，其中 4 个候选基因 *Hs01891*、*Hs04010*、*Hs13557* 和 *Hs00093* 与石松生物碱合成相关；何美娜^[90]以蛇足石杉地上部分为样本，共获得 111 251 个 unigenes，通过京都基因与基因组百科全书分析显示，分别有 4、154 个 unigenes 参与了赖氨酸的合成与代谢；基于 Illumina HiSeq 4000 对蛇足石杉根、茎、叶、孢子囊的转录组测序结果，显示共有 105 516 个去冗余后的转录本，N50 值为 2488 bp，预测了参与石杉碱甲前体生物合成和修饰的关键酶，如 L-赖氨酸脱羧酶 (lysine decarboxylase, LDC)、酮胺氧化酶 (copper amine

表 5 蛇足石杉中的三萜类化合物
Table 5 Triterpenoids from *H. serrata*

编号	化合物名称	化学式	文献	编号	化合物名称	化学式	文献
138	山芝三醇 (tohogenol)	C ₃₀ H ₅₂ O ₃	80	173	3 α ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24,29-diol	C ₃₀ H ₅₄ O ₄	82
139	tohogeninol	C ₃₀ H ₅₂ O ₄	80	174	3 α ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-16-one	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	78
140	山芝烯三醇 (serratriol)	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	81	175	3 α ,21 β ,24-trihydroxy-serrat-14-en-16-one	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	77
141	serratinol A	C ₃₉ H ₅₈ O ₄	82	176	3 α ,21 β ,24-trihydroxy-serrat-14-en	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	78
142	serratinol B	C ₃₉ H ₅₈ O ₅	82	177	3 α ,21 β ,24-trihydroxy-serrat-14-en-16-one	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	78
143	serratenediol-3-acetate	C ₃₂ H ₅₂ O ₃	26	178	3 α ,21 α -dihydroxy-serrat-14-en-24-oic acid	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	81
144	serratenediol-21-acetate	C ₃₂ H ₅₂ O ₃	83	179	21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -yl-acetate	C ₃₂ H ₅₆ O ₄	82
145	山芝烯二醇 (serratenediol)	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	83	180	21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 β -yl-acetate	C ₃₂ H ₅₆ O ₄	84
146	serrat-14-en-3 β ,21 β -diol	C ₃₆ H ₅₆ O ₅	77	181	21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol	C ₃₀ H ₅₄ O ₂	84
147	serrat-14-en-3 β ,21 α -diol	C ₃₆ H ₅₆ O ₅	77	182	21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol	C ₃₀ H ₅₄ O ₂	84
148	serrat-14-en-3 α ,21 β -diol	C ₃₆ H ₅₆ O ₅	77	183	21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -yl propanedioic acid monoester	C ₃₃ H ₅₂ O ₅	81
149	serrat-14-en-3 β ,21 β ,29-triol	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	77	184	21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -yl dihydrocaffeate	C ₃₉ H ₅₈ O ₅	81
150	serrat-14-en-3 β ,21 β ,24-triol	C ₃₆ H ₅₆ O ₆	84	185	21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -yl <i>p</i> -dihydrocoumarate	C ₃₉ H ₅₈ O ₄	81
151	serrat-14-en-3 β ,21 α ,24-triol	C ₃₆ H ₅₆ O ₆	77	186	21 α -hydroxy-serrat-14-en-3 β -yl acetate	C ₃₂ H ₅₆ O ₄	77
152	serrat-14-en-3 α ,21 β ,24-triol	C ₃₆ H ₅₆ O ₆	77	187	21- <i>epi</i> -serratenediol	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	83
153	serrat-14-en-3 α ,21 β ,24,29-tetraol	C ₃₀ H ₅₀ O ₄	77	188	21- <i>epi</i> -serratenediol-3-acetate	C ₃₂ H ₅₂ O ₃	78
154	serratenediol-3,21-diacetate	C ₃₄ H ₅₄ O ₄	78	189	16-oxo-serratriol	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	85
155	serratenediol-3-acetate	C ₃₂ H ₅₂ O ₃	78	190	16-oxo-diepiserratenediol	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	83
156	3 β -hydroxy-serrat-14-en-21 β -yl-acetate	C ₃₂ H ₅₆ O ₃	82	191	16-oxo-3 β -hydroxy-serrat-14-en-21 β -ol	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	82
157	3 β -hydroxy-serrat-14-en-21 α -yl-acetate	C ₃₂ H ₅₆ O ₃	82	192	16-oxo-3 α -hydroxy-serrat-14-en-21 β -ol	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	82
158	3 β -hydroxy-serrat-14-en-21 β -ol	C ₃₀ H ₅₄ O ₂	82	193	16-oxo-3 α ,21 β -hydroxy-serrat-14-en-24-ol	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	82
159	3 β -hydroxy-serrat-14-en-21 α -ol	C ₃₀ H ₅₄ O ₂	82	194	16-oxo-3 α ,21 β -hydroxy-serrat-14-en-24-oic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	82
160	3 β -hydroxy-serrat-14-en-21-one	C ₃₀ H ₄₈ O ₂	82	195	16-oxo-3 α ,21 β -hydroxy-serrat-14-en-24-al	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	82
161	3 β -acetoxy-serrat-14-en-21-on-3-hydroxy-serratanon-acetat	C ₃₂ H ₅₀ O ₃	82	196	16-oxo-3 α ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	82
162	3 β ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-29-ol	C ₃₀ H ₅₄ O ₃	82	197	16-oxo-3 α ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-al	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	81
163	3 β ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol	C ₃₀ H ₅₄ O ₃	82	198	16-oxo-3 α ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-oic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	81
164	3 β ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-16-one	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	77	199	16-oxo-21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 β -ol	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	82
165	3 β ,21 β ,24-trihydroxy-serrat-14-en	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	78	200	16-oxo-21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 α -ol	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	82
166	3 β ,21 α -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	84	201	16-oxo-21 β -hydroxy-serrat-14-en-3 α -yl-acetate	C ₃₂ H ₅₀ O ₄	84
167	3 β ,14 β -dihydroxy-serrat-21 α -ol	C ₃₀ H ₅₇ O ₄	82	202	14 β ,15 β -epoxyserrat-3 β ,21 β ,29-triol	C ₃₀ H ₅₀ O ₄	77
168	3 β ,14 β ,21 α -trihydroxy-serrat-24-ol	C ₃₀ H ₅₇ O ₅	82	203	14 β ,15 β -epoxy-3 β -hydroxy-serrat-21 β	C ₃₀ H ₅₂ O ₄	82
169	3 β ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-29-ol	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	82	204	14 β ,15 β -epoxy-3 β -hydroxy-serrat-21 β -ol	C ₃₀ H ₅₂ O ₃	82
170	3 β -hydroxy-serrat-14-en-21 β -yl- <i>p</i> -dihydrocoumarate	C ₃₉ H ₅₈ O ₄	78	205	14 β ,15 β -epoxy-3 β -hydroxy-serrat-21 α -yl-acetate	C ₃₂ H ₅₄ O ₄	82
171	3 α ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-ol	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	84	206	14 β ,15 β -epoxy-3 β -hydroxy-serrat-21 α -ol	C ₃₀ H ₅₂ O ₃	82
172	3 α ,21 β -dihydroxy-serrat-14-en-24-oic acid	C ₃₀ H ₅₄ O ₄	82				

oxidase, CAO)、聚酮合酶 (polyketide synthase, PKS) 和 CYP450, 对其编码基因进行差异表达分析, 结果显示叶片中 CAO、PKS、CYP450 表达量

较高, 并通过实时荧光定量聚合酶链式反应进行了验证^[91]。基于 RNA 测序转录组测序分析, Peng 等^[92]注释获得 49 923 个 unigenes, 通过差异表达分析发现,

表 6 蛇足石杉中其他化学成分
Table 6 Other compounds contained in *H. serrata*

编号	类型	化合物名称	分子式	文献
207	黄酮类	5,5'-dihydroxy-2',4'-dimethoxy-flavone-7-O-β-D-(6''-O-Z-p-coumaroyl)-glucopyranoside	C ₃₂ H ₃₀ O ₁₄	87
208		5,7,4'-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	84
209		金圣草(黄)素(5,7,4'-trihydroxy-3'-methoxyflavone)	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	84
210		5,7,2',4'-tetrahydroxy-5'-methoxyflavone	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	84
211		芹菜素(apigenin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	84
212	甾醇类	β-谷甾醇(β-sitosterol)	C ₃₀ H ₅₂ O	26
213		胡萝卜甾醇(daucosterol)	C ₃₅ H ₆₀ O ₆	26
214		羽扇豆醇(lupeol)	C ₃₀ H ₅₀ O	84
215	二萜类	3β-hydroxy-isopimaric acid	C ₂₀ H ₃₀ O ₃	88
216		15R-12,16-epoxy-11,14-dihydroxy-8,11,13-abietanoid-7-one	C ₂₀ H ₂₈ O ₄	88
217	蒽醌类	大黄素甲醚(phycion)	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	84
218	醇类	三十烷醇(triacontanol)	C ₃₀ H ₆₂ O	78
219		1-dibenzofuranol	C ₁₂ H ₈ O ₂	78

在幼叶、老叶和茎中分别有 1158、1675、1326 个基因特异性表达,结合转录组分析得到 2 个编码 LDC 的 unigenes (*LDC1* 和 *LDC2*),以及 3 个编码 CAO 的 unigenes (*CAO1*、*CAO2* 和 *CAO3*)。光照影响蛇足石杉的生长发育^[93]。张林魁等^[94]研究发现,孢子和叶中有 2321 (3.3%) 个基因表达上调,2832 (6.7%) 个基因下调,进一步对二者中差异表达基因进行分析,结果显示共有 294 个基因参与了蛇足石杉的光周期途径。而基于超高效液相串联质谱仪的综合代谢组学研究,Wu 等^[95]从蛇足石杉中分离鉴定了 118 种生物碱,其中,有 72 种在不同组织中存在显著差异;进一步分析发现,生物碱 huperzine A、huperzine B、lycoposerramine C 和 lycoposerramine D 在茎和叶中的含量显著高于根,且具有相同的变化趋势。目前转录组研究多定位在石杉碱甲的生物合成过程中,催化赖氨酸和丙二酰辅酶 A 相关的 LDC、CAO 和 PKS,这些转录组数据对进一步探讨蛇足石杉生长发育和次生代谢的合成机制奠定了基础。

2.2 生物碱和萜类生物合成

2.2.1 石松型生物碱 石松型生物碱是蛇足石杉的特征活性成分,目前有关其生物合成的研究主要聚焦于石杉碱甲,其生物合成途径主要包括石松定碱骨架形成和下游后修饰阶段。目前认为石榴碱(pelletierine)和 4-(2-哌啶基)乙酰乙酸[4-(2-piperidyl) acetoacetate, 4PAA]是石松定碱骨架形成的关键前体^[96],其中石榴碱由 4PAA 自发脱羧形成;

4PAA 由 Δ¹-哌啶烯和 3-氧戊二酸发生亚胺酮缩合反应生成;Δ¹-哌啶烯的生物合成起始物为 L-赖氨酸^[97],其被 L-赖氨酸脱羧酶(lysine decarboxylase, LDC)催化形成尸胺(cadaverine),尸胺在酮胺氧化酶(copper amine oxidase, CAO)作用下生成 5-氨基戊醛(5-aminopentanal),后脱水并环化为 Δ¹-哌啶烯(1-piperidine);3-氧戊二酸的起始物为乙酸,其活化形成乙酰辅酶 A (acetyl-CoA),经系列反应生成丙二酰辅酶 A (malonyl-CoA),随后 2 分子丙二酰辅酶 A 与 III 型聚酮合酶(polyketide synthase III, PKS III)作用生成 3-氧戊二酸(3-oxoglutaric acid)。下游途径中,目前认为由 3 种双加氧酶(dioxygenase, 2OGD)参与合成,首先石松定碱骨架与相关酶反应转化形成 N-甲基-α-玉柏碱(des-N-methyl-α-obscurine, DNMAO),但有关机制尚不清楚;随后 DNMAO 在 2OGD-3 催化下形成具吡啶环的去 N-甲基-β-玉柏碱(des-N-methyl-β-obscurine, DNMBO),DNMBO 发生氧化反应后转化为石杉碱乙,石杉碱乙在 2OGD-1 催化下,哌啶环裂解形成中间产物石杉碱丙,在 2OGD-2 作用下石杉碱丙的双键异构化形成石杉碱甲^[98],见图 2。

2.2.2 石杉型三萜 石杉型三萜(锯齿烷型三萜)是一类特殊的五环三萜,其生物合成途径亦可分为三萜骨架形成和下游修饰阶段。石杉型三萜骨架形成阶段,之前有关学者认为芒柄花萜醇(α-onocerin)是三萜化合物合成的关键前体,其经相关酶催化后

蛇足石杉作为一种重要的药用植物,其所含的石杉碱甲为强效 AChE 抑制剂,对重症肌无力症的治疗有效率高达 99.2%,对老年痴呆症、单纯记忆障碍等疗效显著^[103],是临床治疗上述疾病最有效的药物之一。由于蛇足石杉野生资源有限,且石杉碱

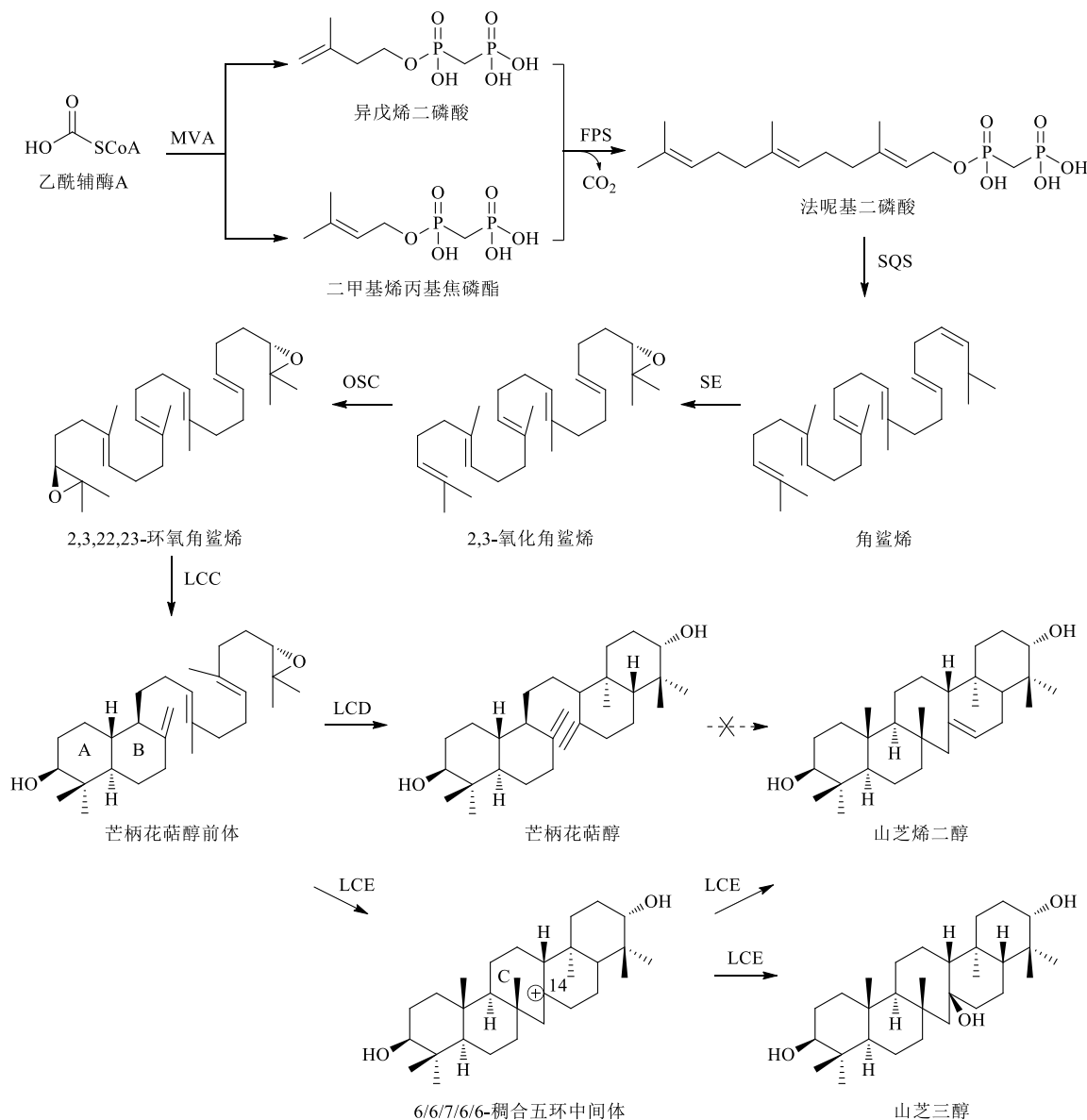


图 3 石杉型三萜的生物合成途径

Fig. 3 Biosynthesis pathway of serratene triterpenoids

甲含量甚微，开展这一珍贵植物资源研究，探讨合理开发利用途径十分必要。化学合成是解决天然产物稀缺的重要手段，然而石杉碱甲的人工合成价格高昂，获得产物纯度较低，且大多数衍生物及类似物的生物活性较低甚至丧失等问题，均限制了石杉碱甲合成的发展和应用^[104]。随着分子代谢及生物技术的快速发展，有关天然产物生物合成及调控基因研究的不断深入，为石杉碱甲生物合成提供了重要参考，但当前相关研究还存在一些问题，如蛇足石杉在全球分布广泛，变种较多，关于该物种的分类和系统发育进化关系尚存较大争议^[105]，有必要进一步开展深入研究。通过叶绿体基因组序列或转录组

编码基因的系统进化研究，有助于深入理解该物种及其近缘类群之间的演化关系；其次，目前蛇足石杉染色体的相关研究样本采集范围有限，基因组研究仍为空白，限制了其种间演变和进化关系的探索^[106]；关于蛇足石杉活性成分生物合成途径相关研究，国内外虽解析了蛇足石杉及其亲缘种中石杉碱甲生物合成的大致途径，并初步明确了参与上游合成途径的关键酶基因，但涉及石榴碱和 4PAA 骨架形成的过程和关键酶尚不明确，且参与下游途径中多个步骤的关键酶基因亦不清楚；此外，有关石杉型三萜的生物合成途径，目前仅明确了七元环骨架形成的关键酶 LCD 和 LCE，其骨架修饰相关过程关键酶

还有待进一步研究。因此,蛇足石杉的基因组、转录组及代谢组研究仍亟待深入解析并挖掘,基于多组学的蛇足石杉活性成分生物合成研究,将为成分绿色合成提供重要基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵刚, 胡光明, 吴平华, 等. 药用蕨类植物蛇足石杉的研究进展 [J]. 上饶师范学院学报, 2018, 38(6): 67-73.
- [2] 马英姿, 刘江海, 张家玲. 林下珍稀药用植物蛇足石杉繁殖的研究进展 [J]. 经济林研究, 2016, 34(2): 162-166.
- [3] 齐耀东, 王德立. 蛇足石杉的种群结构和致危因素 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(1): 96-102.
- [4] 王德立, 齐耀东. 蛇足石杉不同天然居群的土壤酶活性研究 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(10): 1407-1410.
- [5] 张庭荟. 石杉碱甲提取工艺及药理功效研究进展 [J]. 西部皮革, 2016, 38(2): 10.
- [6] Ghassab-Abdollahi N, Mobasser K, Dehghani Ahmadabad A, et al. The effects of huperzine A on dementia and mild cognitive impairment: An overview of systematic reviews [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(9): 4971-4987.
- [7] 陈业高, 刘怡君, 蒋金和, 等. 石松类生物碱成分研究的新进展 [J]. 云南师范大学学报: 自然科学版, 2010, 30(6): 12-24.
- [8] 易家宝, 颜杰, 李旭明. 石杉碱甲结构改造的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(6): 1080-1083.
- [9] 周文昊, 董秋竹, 成飞, 等. 石杉型三萜类化合物及其生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(12): 3736-3751.
- [10] 袁经权, 周小雷, 王硕, 等. 蛇足石杉化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(2): 399-407.
- [11] 谢峻, 张静怡, 汤宁, 等. 加兰他敏和石杉碱甲生物合成的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(3): 812-820.
- [12] Wu X D, Li X N, Peng L Y, et al. Huperserratinines A and B, two macrocyclic lycopodium alkaloids with an unusual skeleton from *Huperzia serrata* [J]. *J Org Chem*, 2020, 85(10): 6803-6807.
- [13] 黄骥, 赵爱玲. 蛇足石杉中石杉碱甲含量的动态变化分析 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2511-2515.
- [14] Yang Y, Dai L F, Wu D C, et al. *In vitro* propagation, huperzine A content and antioxidant activity of three genotypic *Huperzia serrata* [J]. *Plants*, 2021, 10(6): 1112.
- [15] 王德立, 甘炳春, 齐耀东, 等. 蛇足石杉不同生长阶段植株中石杉碱甲含量的地区差异及生境影响的比较观察 [J]. 中国新药杂志, 2014, 23(3): 326-332.
- [16] 鲁润龙, 周忠泽, 鲍时来, 等. 药用植物蛇足石杉的生物学特性 [J]. 中国科学技术大学学报, 1999(1): 121-124.
- [17] 赵宪鹤. 生源启发的 Lycodoline 型和 Fawcettimine 型石松科生物碱合成研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2017.
- [18] Tan C H, Jiang S H, Zhu D Y. Huperzine P, a novel *Lycopodium* alkaloid from *Huperzia serrata* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2000, 41(30): 5733-5736.
- [19] Tan C H, Chen G F, Ma X Q, et al. Three new phlegmariurine B type lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2002, 4(3): 227-231.
- [20] Tan C H, Wang B D, Jiang S H, et al. New lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Planta Med*, 2002, 68(2): 188-190.
- [21] 谭小健, 王海顷, 蒋华良, 等. 8 α -OH 马尾杉碱 B 的结构鉴定: NMR 谱分析及密度泛函理论研究 [J]. 化学学报, 2000, 58(11): 1386-1392.
- [22] 袁珊琴, 赵毅民. 蛇足石杉中一个新的 phlegmariurine 型生物碱 [J]. 药学学报, 2003, 38(8): 596-598.
- [23] Yang Y F, Qu S J, Xiao K, et al. *Lycopodium* alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(11): 1005-1009.
- [24] Takayama H, Katakawa K, Kitajima M, et al. A new type of lycopodium alkaloid, lycoposerramine-A, from *Lycopodium serratum* Thunb. [J]. *Org Lett*, 2001, 3(26): 4165-4167.
- [25] Takayama H, Katakawa K, Kitajima M, et al. Seven new lycopodium alkaloids, lycoposerramines-C, -D, -E, -P, -Q, -S, and -U, from *Lycopodium serratum* Thunb [J]. *Tetrahedron Lett*, 2002, 43(46): 8307-8311.
- [26] 蒋金和, 刘莹, 王利勤, 等. 蛇足石杉化学成分的研究 [J]. 云南师范大学学报: 自然科学版, 2010, 30(3): 59-65.
- [27] Katakawa K, Kogure N, Kitajima M, et al. A new lycopodium alkaloid, lycoposerramine-R, with a novel skeleton and three new fawcettimine-related alkaloids from *Lycopodium serratum* [J]. *Helv Chim Acta*, 2009, 92(3): 445-452.
- [28] Tan C H, Ma X Q, Chen G F, et al. Huperzines S, T, and U: New lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Can J Chem*, 2003, 81(4): 315-318.
- [29] Katakawa K, Nozoe A, Kogure N, et al. Fawcettimine-related alkaloids from *Lycopodium serratum* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(6): 1024-1028.
- [30] Inubushi Y, Harayama T, Akatsu M, et al. The structures of serratine and serratanidine [J]. *Chem Pharm Bull*, 1968, 16(12): 2463-2470.
- [31] Katakawa K, Mito H, Kogure N, et al. Ten new

- fawcettimine-related alkaloids from three species of *Lycopodium* [J]. *Tetrahedron*, 2011, 67(35): 6561-6567.
- [32] 俞超美, 沈文照, 韩锦文, 等. 草药蛇足草生物碱的研究 [J]. 药学学报, 1982, 17(10): 795-797.
- [33] Yasui B, Ishii H, Harayama T, *et al.* Structure of serratinidine: Correlation with serratinine [J]. *Tetrahedron Lett*, 1966, 7(33): 3967-3973.
- [34] Morita H, Arisaka M, Yoshida N, *et al.* Serratezomines A-C, new alkaloids from *Lycopodium serratum* var. *serratum* [J]. *J Org Chem*, 2000, 65(19): 6241-6245.
- [35] Gao W Y, Wang B D, Li Y M, *et al.* A new alkaloid and arbutin from the whole plant of *Huperzia serrata* [J]. *Chin J Chem*, 2010, 18(4): 614-616.
- [36] 袁珊琴, 赵毅民, 冯锐. 蛇足石杉新碱的结构鉴定 [J]. 药学学报, 2002, 37(12): 946-949.
- [37] Ayer W A, Ma Y T, Liu J S, *et al.* Macleanine, a unique type of dinitrogenous lycopodium alkaloid [J]. *Can J Chem*, 1994, 72(1): 128-130.
- [38] Tan C H, Ma X Q, Zhou H, *et al.* Two novel hydroperoxylated lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(1): 118-121.
- [39] Cao H, Chai T T, Wang X, *et al.* Phytochemicals from fern species: Potential for medicine applications [J]. *Phytochem Rev*, 2017, 16(3): 379-440.
- [40] Hong B K, Hu D C, Wu J B, *et al.* Divergent total syntheses of (-)-huperzine Q, (+)-lycopoladine B, (+)-lycopoladine C, and (-)-4-*epi*-lycopoladine D [J]. *Chem Asian J*, 2017, 12(13): 1557-1567.
- [41] Tan C H, Chen G F, Ma X Q, *et al.* Huperzine R, a novel 15-carbon lycopodium alkaloid from *Huperzia serrata* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(7): 1021-1022.
- [42] Gao, W Y, Li Y M, Wang B D, *et al.* Huperzine H, a new lycopodium alkaloid from *Huperzia serrata* [J]. *Chin Chem Lett*, 1999, 10(6): 463-466.
- [43] 王海顷. 1. 石杉生物碱成分研究; 2. 乌头生物碱成分研究 [D]. 上海: 中国科学院上海生命科学研究院, 1999.
- [44] 袁珊琴, 冯锐, 顾国明. 蛇足石杉生物碱成分的研究 (II) [J]. 中草药, 1994, 25(9): 595-596.
- [45] Zhu D Y, Jiang S H, Huang M F, *et al.* Huperserratinine from *Huperzia serrata* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(4): 1069-1072.
- [46] Tan C H, Ma X Q, Chen G F, *et al.* Two novel lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Helv Chim Acta*, 2002, 85(4): 1058-1061.
- [47] Jiang W W, Liu F, Gao X, *et al.* Huperserrines A-E, lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 99: 72-77.
- [48] Yu C M, Calhoun L A, Konder R M, *et al.* Huperzimine, a novel lycopodium alkaloid from *Huperzia serrata* [J]. *Can J Chem*, 2015 92(40): 406-410.
- [49] Jiang F F, Qi B W, Ding N, *et al.* Lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Fitoterapia*, 2019, 137: 104277.
- [50] Shan W G, Ren F Y, Ying Y M, *et al.* A new lycopodine alkaloid from *Huperzia serrata* [J]. *J Chem Res*, 2012, 36(1): 15-16.
- [51] Jiang J H, Liu Y, Min K, *et al.* Two new lycopodine alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Helvetica Chimica Acta*, 2010, 93(6): 1187-1191.
- [52] Wang H B, Tan C H, Tan J J, *et al.* Two new *N*-oxide lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(15): 1363-1366.
- [53] Wang H B, Tan C H, Tan J J, *et al.* Lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Helv Chim Acta*, 2007, 90(1): 153-157.
- [54] 袁珊琴, 冯锐, 顾国明. 蛇足石杉生物碱成分的研究 (III) [J]. 中草药, 1995, 26(3): 595-596.
- [55] Takayama H, Katakawa K, Kitajima M, *et al.* Ten new lycopodium alkaloids having the lycopodane skeleton isolated from *Lycopodium serratum* Thunb. [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2003, 51(10): 1163-1169.
- [56] Tan C H, Ma X Q, Jiang S H, *et al.* Three new hydroxylated serratinidine alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Nat Prod Lett*, 2002, 16(3): 149-153.
- [57] 王保德, 滕宁宁, 朱大元. 石杉碱 O 的结构鉴定 [J]. 有机化学, 2000, 20(5): 812-814.
- [58] Siengalewicz P, Mulzer J, Rinner U. Lycopodium alkaloids: Synthetic highlights and recent developments [J]. *Alkaloids Chem Biol*, 2013, 72: 1-151.
- [59] Lin L J, Lin L Z, Cordell G A, *et al.* NMR assignments of huperzine a, serratinine and lucidioline [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(5): 1425-1428.
- [60] Tan C H, Zhu D Y. Lycopodine-type lycopodium alkaloids from *Huperzia serrata* [J]. *Helv Chim Acta*, 2004, 87(8): 1963-1967.
- [61] Patil S P. Recently isolated lycodine-type lycopodium alkaloids and their total synthesis: A review [J]. *Futur J Pharm Sci*, 2020, 6: 99.
- [62] 张青. 石松科 Lycopodine 型生物碱多样性合成研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [63] Liu Y C, Zhang Z J, Su J, *et al.* Lycodine-type lycopodium alkaloids from the whole plants of *Huperzia serrata* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2017, 7(5): 405-411.
- [64] 袁珊琴, 赵毅民. 蛇足石杉生物碱成分的研究 (VI) [J]. 中草药, 2003, 34(7): 595-596.
- [65] 袁珊琴, 魏同泰. 蛇足石杉生物碱成分的研究 [J]. 药学学报, 1988, 23(7): 516-520.

- [66] Shan S M, Luo J G, Pan K, *et al.* Rapid screening and identification of lycodine-type alkaloids in Lycopodiaceae and Huperziaceae plants by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(11): 1861-1872.
- [67] 袁珊琴, 赵毅民, 冯锐. 蛇足石杉碱丙的结构鉴定 [J]. *药学报*, 2004, 39(2): 116-118.
- [68] Kubota T, Yahata H, Yamamoto S, *et al.* Serratezomines D and E, new lycopodium alkaloids from *Lycopodium serratum* var. *serratum* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(13): 3577-3580.
- [69] Gao W, Li Y, Jiang S, *et al.* Three lycopodium alkaloid N-oxides from *Huperzia serrata* [J]. *Planta Med*, 2000, 66(7): 664-667.
- [70] Bosch C, Bradshaw B, Bonjoch J. Decahydroquinoline ring ¹³C-NMR spectroscopic patterns for the stereochemical elucidation of phlegmarine-type lycopodium alkaloids: Synthesis of (-)-serralongamine A and structural reassignment and synthesis of (-)-huperzine K and (-)-huperzine M (lycoposerramine Y) [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(6): 1576-1586.
- [71] Katakawa K, Kitajima M, Yamaguchi K, *et al.* Three new phlegmarine-type lycopodium alkaloids, lycoposerramines-X, -Y and -Z, having a nitron residue, from *Lycopodium serratum* [J]. *ChemInform*, 2007, 38(19): 177.
- [72] Liu H Q, Tan C H, Jiang S H, *et al.* Huperzine V, a new lycopodium alkaloid from *Huperzia serrata* [J]. *Chin Chem Lett*, 2004, 15(3): 303-304.
- [73] Siengalewicz P, Mulzer J, Rinner U. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* [M]. New York: Academic Press, 2013: 72.
- [74] 袁珊琴, 赵毅民, 冯锐. 蛇足石杉生物碱成分的研究 (V) [J]. *军事医学科学院院刊*, 2001, 25(1): 57-58.
- [75] 袁珊琴, 赵毅民. 蛇足石杉生物碱成分的研究(IV) [J]. *中草药*, 2000, 31(7): 20-21.
- [76] 杨舜伊, 袁纯红, 蒋金和, 等. 石松类锯齿烷型三萜成分及其生物活性研究进展 [J]. *浙江农业科学*, 2020, 61(4): 708-714.
- [77] Zhou H, Li Y S, Tong X T, *et al.* Serratane-type triterpenoids from *Huperzia serrata* [J]. *Nat Prod Res*, 2004, 18(5): 453-459.
- [78] 郑凯凯, 赵圆圆, 袁谱龙, 等. 蛇足石杉中非生物碱类化学成分研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(1): 15-20.
- [79] Ham Y M, Yoon W J, Park S Y, *et al.* Investigation of the component of *Lycopodium serratum* extract that inhibits proliferation and mediates apoptosis of human HL-60 leukemia cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(8): 2629-2634.
- [80] Sano T, Tsuda Y, Inubushi Y. Structures of tohogenol and tohogeninol: Triterpenoids of *Lycopodium serratum* [J]. *Tetrahedron*, 1970, 26(12): 2981-2986.
- [81] Zhou H, Tan C H, Jiang S H, *et al.* Serratane-type triterpenoids from *Huperzia serrata* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(10): 1328-1332.
- [82] 罗超. 蛇足石杉化学成分研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- [83] 李军, 韩燕艺, 刘嘉森. 千层塔中三萜成分的研究 [J]. *药学报*, 1988, 23(7): 549-552.
- [84] 罗超, 陈重, 张文芳, 等. 蛇足石杉化学成分研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(12): 2407-2409.
- [85] Tsuda Y, Fujimoto T, Kimpara K. 16-Oxoserratriol and 16-oxolycoclavanol: *Lycopodium* triterpenoids [J]. *J Chem Soc D*, 1970(5): 261.
- [86] 鲁翠涛, 梅兴国, 钟凡. 千层塔植物茎叶中黄酮类物质的研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2002, 14(3): 27-29.
- [87] 杨亚滨, 杨雪琼, 徐艳群, 等. 千层塔中的一个新黄酮苷 [J]. *中国天然药物*, 2008, 6(6): 408-410.
- [88] 杨亚滨, 杨雪琼, 徐艳群, 等. 千层塔中的两个二萜化合物 [A] // 第七届全国天然有机化学学术研讨会论文集 [C]. 成都: 中国化学会, 2008: 52.
- [89] Luo H M, Li Y, Sun C, *et al.* Comparison of 454-ESTs from *Huperzia serrata* and *Phlegmariurus carinatus* reveals putative genes involved in lycopodium alkaloid biosynthesis and developmental regulation [J]. *BMC Plant Biol*, 2010, 10: 209.
- [90] 何美娜. 蛇足石杉转录组测序及基于 SSR 标记的遗传多样性分析 [D]. 西安: 西北大学, 2017.
- [91] Yang M Q, You W J, Wu S W, *et al.* Global transcriptome analysis of *Huperzia serrata* and identification of critical genes involved in the biosynthesis of huperzine A [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 245.
- [92] Peng Q Z, Long H, Du C, *et al.* RNA-seq of aboveground sporophyte's transcriptome of *Huperzia serrata* and transcriptional understanding of early steps associated with huperzine biosynthesis in forest [J]. *Curr Plant Biol*, 2020, 24: 100159.
- [93] 骆冰洁, 姚茂君, 曹德华. 蛇足石杉芽胞萌发及生长发育的影响因素 [J]. *吉首大学学报: 自然科学版*, 2016, 37(1): 64-68.
- [94] 张林魁, 许义红, 陆廷祥, 等. 基于蛇足石杉转录组测序筛选及分析光周期相关基因 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(12): 5736-5743.
- [95] Wu S W, Fan Z, Xiao Y L. Comprehensive relative quantitative metabolomics analysis of lycopodium alkaloids in different tissues of *Huperzia serrata* [J]. *Synth Syst*

- Biotechnol, 2017, 3(1): 44-55.
- [96] 陈作毅, 张君诚. 石杉碱生物合成与代谢途径研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(6): 1815-1818.
- [97] Hemscheidt T. *Tropane and Related Alkaloids* [M]. Berlin: Biosynthesis, 2000: 175-206.
- [98] Nett R S, Dho Y, Low Y Y, *et al.* A metabolic regulon reveals early and late acting enzymes in neuroactive *Lycopodium* alkaloid biosynthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(24): e2102949118.
- [99] 张宇. 石松三萜成分的研究 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2014.
- [100] Saga Y, Araki T, Araya H, *et al.* Identification of serratane synthase gene from the fern *Lycopodium clavatum* [J]. *Org Lett*, 2017, 19(3): 496-499.
- [101] Araki T, Saga Y, Marugami M, *et al.* Onocerin biosynthesis requires two highly dedicated triterpene cyclases in a fern *Lycopodium clavatum* [J]. *Chem Bio Chem*, 2016, 17(4): 288-290.
- [102] 田荣, 谷巍, 韦陈彬, 等. 植物三萜类成分生物合成中氧鲨烯环化酶与细胞色素 P450 的研究进展 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(2): 303-310.
- [103] Callizot N, Campanari M L, Rouvière L, *et al.* *Huperzia serrata* extract 'NSP01' with neuroprotective effects-potential synergies of huperzine A and polyphenols [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 681532.
- [104] Thu Ha T T, Khanh T D, Trung K H. Evaluation of genetic diversity and identification of *Huperzia* species collected in some different areas in Vietnam by molecular markers [J]. *Int Lett Nat Sci*, 2020, 80: 13-23.
- [105] Yang Y H, Wang H, Yu H X, *et al.* Simultaneous separation and determination of three huperzine alkaloids in *Huperzia serrata* and its preparations by cyclodextrin-modified mixed micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *Anal Biochem*, 2021, 623: 114207.
- [106] 陈思思, 张梦华, 王锦秀, 等. 药用植物千层塔的基原物种及研究进展 [J]. 广西植物, 2021, 41(11): 1794-1809.
- [责任编辑 崔艳丽]