

骆驼蓬子生物碱化学成分研究

刘永建, 刘 浩, 李华爽, 杨宇萍, 刘永刚*

北京中医药大学中药学院 北京 100029

摘要: 目的 研究骆驼蓬 *Peganum harmala* 子醇提液酸溶碱沉后总生物碱的化学成分。方法 采用多种色谱技术进行分离纯化, 通过 MS、NMR 及合成等方法对化合物结构进行鉴定, 并以 CCK-8 法测定部分化合物对人结肠癌 HCT116 细胞的体外抗肿瘤活性。结果 从骆驼蓬子总生物碱中分离得到了 12 个化合物, 分别为 1-甲基-2-甲氧甲基-7-甲氧基-9*H*-吡啶并[3,4-*b*]吡啶-2-盐酸盐 (1)、对苯二甲酸二(2-乙基)己酯 (2)、鸭嘴花酮碱 (3)、鸭嘴花碱 (4)、harmalanine (5)、去氢骆驼蓬碱 (6)、哈尔满 (7)、哈尔酚 (8)、norharmine (9)、骆驼蓬碱 (10)、四氢骆驼蓬碱 (11)、骆驼蓬酚 (12)。体外抗肿瘤实验表明, 化合物 5 的 24 h 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 为 (36.41 ± 1.91) μmol/L。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为氮杂缩醛去氢骆驼蓬碱 A, 化合物 2 为骆驼蓬植物中首次分离得到, 而较强共轭系统的化合物 5 具有潜在的抗癌活性。

关键词: 骆驼蓬子; 抗癌活性; 生物碱; 去氢骆驼蓬碱; 骆驼蓬碱; 氮杂缩醛去氢骆驼蓬碱 A

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)03-0705-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.03.002

Alkaloidal chemical compositions from seeds of *Peganum harmala*

LIU Yongjian, LIU Hao, LI Huashuang, YANG Yuping, LIU Yonggang

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To investigate the chemical compositions of total alkaloids from the alcoholic extract of *Peganum harmala* L. seeds after acid solubilization and alkaline precipitation. **Methods** The compounds were isolated and purified by various chromatographic techniques, and their structures were characterized by MS, NMR and synthesis, and the *in vitro* anticancer activities of some compounds against human colon cancer cell HCT116 were determined by CCK-8 method. **Results** A total of 12 compounds were isolated from the total alkaloids, namely 7-methoxy-2-(methoxymethyl)-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium chloride (1), bis(2-ethylhexyl) terephthalate (2), vasicone (3), vasicine (4), harmalanine (5), harmine (6), harmine (7), harmol (8), norharmine (9), harmaline (10), tetrahydroharmine (11), and harmalol (12). The *in vitro* anticancer cell assay showed that the 24 h median inhibition concentration (IC₅₀) of compound 5 was (36.41 ± 1.91) μmol/L. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named azaacetal harmine A, and compound 2 was isolated for the first time from *P. harmala* L. Compound 5 with the strong conjugation system has potential anticancer activity.

Key words: *Peganum harmala* seeds; anticancer activity; alkaloid; harmine; harmaline; azaacetal harmine A

骆驼蓬 *Peganum harmala* L. 是蒺藜科骆驼蓬属多年生草本植物, 在我国广泛分布于新疆、内蒙古西部、陕西、甘肃、宁夏等地区, 在美国、印度、非洲和伊朗的干旱和半干旱地区亦有分布。该植物的种子和全草均可入药, 是我国维吾尔族、哈萨克族和蒙古族等民族沿用已久的民族药物, 其种子的

药用成分较高, 经常被用于治疗消化道癌症、感冒、风湿病、疟疾、健忘症和一些皮肤病等。现代药理研究表明其具有抗肿瘤、消炎镇痛、驱虫杀菌等作用^[1]。种子中富含生物碱, 主要为 β-卡波林 (β-carboline) 和喹唑啉 (quinazoline) 类, 例如去氢骆驼蓬碱 (harmine)、骆驼蓬碱 (harmaline)、鸭嘴花

收稿日期: 2023-11-24

基金项目: 北京市自然科学基金项目 (7232283)

作者简介: 刘永建 (1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: liuyongjian85@163.com

*通信作者: 刘永刚 (1981—), 男, 教授, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: liuyg0228@163.com

碱 (vasicine)、脱氧鸭嘴花碱 (deoxyvasicine) 等^[2]。骆驼蓬种子中, 总生物碱量为 3.2%~7.7%, 主要含去氢骆驼蓬碱与骆驼蓬碱 (图 1), 也有文献报道二者在干燥种子中的质量分数分别为 4.3% 和 5.6%, 另外包含骆驼蓬酚 (harmalol) 0.6%, 四氢骆驼蓬碱 (tetrahydroharmine) 0.1%^[3-4]。骆驼蓬子生物碱有着广泛的药理作用, 例如抗肿瘤^[5]、抗菌^[6]、抗病毒^[7]、抗抑郁^[8]、抗阿尔茨海默^[9]、镇痛^[10]等。

为了进一步探究骆驼蓬子生物碱的活性成分, 本研究从骆驼蓬子醇提-酸溶碱沉后的总生物碱中

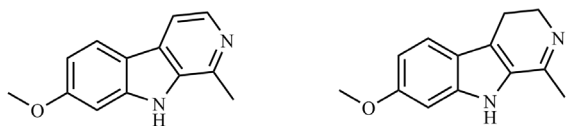


图 1 去氢骆驼蓬碱 (左) 与骆驼蓬碱 (右) 的结构

Fig. 1 Structures of harmine (left) and harmaline (right)

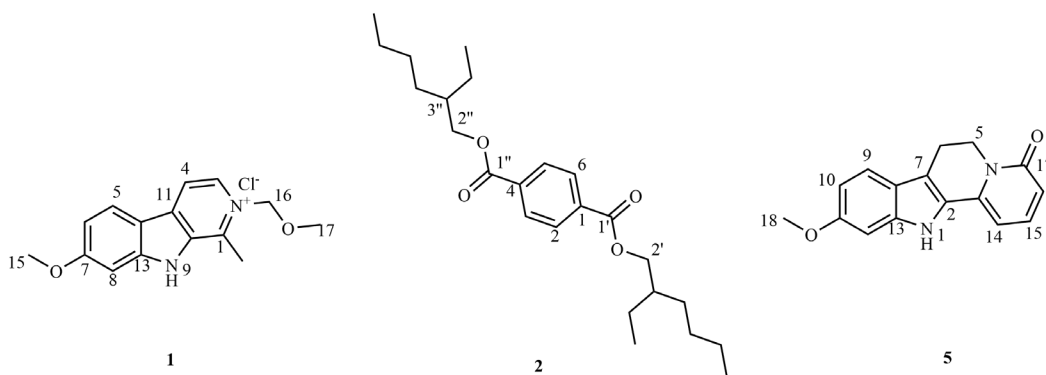


图 2 化合物 1、2 和 5 的结构

Fig. 2 Structures of compounds 1, 2 and 5

1 仪器与材料

BT224S 型十万分之一电子天平 (德国 Sartorius 公司); AVANCE NEO 400/600 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); UPLC-MS (美国赛默飞世尔科技公司); SpectraMax i3x 型酶标仪 (美国 BioTek 公司); SW-CJ-2FD (标准型) 双人单面净化工作台 (苏州博莱尔净化设备有限公司); Series II 型二氧化碳培养箱、Revco PLUS 型 -80 °C 低温冰箱 (美国 Thermo 公司); FC5515R 型高速低温离心机 (美国 Ohaus 公司); 磁力搅拌器 (冠森生物科技有限公司); 96 孔板 (美国 Corning Incorporated 公司)。

分析纯醋酸乙酯、石油醚、二氯甲烷、甲醇 (北京化工厂); 95% 溴甲基甲基醚、65% 顺铂 (上海麦克林生化科技股份有限公司); 柱色谱硅胶 (200~300 目)、GF₂₅₄ 硅胶薄层色谱板 (青岛海洋化工厂);

分离得到了 12 个化合物, 分别为 1-甲基-2-甲氧甲基-7-甲氧基-9*H*-吡啶并[3,4-*b*]吲哚-2-盐酸盐 (7-methoxy-2-(methoxymethyl)-1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-2-ium chloride, **1**), 对苯二甲酸二(2-乙基)己酯 [bis(2-ethylhexyl) terephthalate, **2**], 鸭嘴花酮碱 (vasicine, **3**)、鸭嘴花碱 (vasicine, **4**)、harmalanine (**5**)、去氢骆驼蓬碱 (harmine, **6**)、哈尔满 (harmane, **7**)、哈尔酚 (harmol, **8**)、norharmane (**9**)、骆驼蓬碱 (harmaline, **10**)、四氢骆驼蓬碱 (tetrahydroharmine, **11**)、骆驼蓬酚 (harmalol, **12**)。其中化合物 **1** 为新发现的化合物, 命名为氮杂缩醛去氢骆驼蓬碱 A (图 2)。化合物 **2** 为非生物碱, 从骆驼蓬植物中首次分离得到 (图 2)。化合物 **1**、**2** 及 **5** 对 HCT116 细胞的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 分别为 (88.49±4.65)、(113.91±12.19)、(36.41±1.91) μmol/L。

葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (美国 GE 公司); CCK-8 试剂盒、磷酸缓冲盐溶液、胎牛血清 (FBS)、链霉素-青霉素双抗 (PS)、高糖 DMEM 培养基 (美国 Corning Incorporated 公司); 胰蛋白酶 (美国 Sigma 公司); HCT116 细胞来自中国科学院细胞库。

骆驼蓬子购自新疆, 经北京中医药大学刘永刚教授鉴定为蒺藜科植物骆驼蓬 *P. harmala* L. 的种子。

2 方法

2.1 提取与分离

取骆驼蓬种子 4.8 kg, 经过粉碎机高速粉碎, 用 80% 乙醇浸提, 滤过后减压浓缩得到浸膏 1.5 kg。于浸膏中加入 5% 盐酸调 pH 值为 2~3, 过夜, 滤过。滤液用氨水调 pH 值至 11~12, 静置后抽滤, 得到总碱 333.4 g。总碱经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (1:0→0:1) 梯度洗脱。收集二氯甲烷-甲醇 (1:0)

的洗脱液,得到流分 Fr. 1 (1.4 g)。收集二氯甲烷-甲醇(100:1)的洗脱液,得到流分 Fr. 8 (3.8 g)。收集 80:1~30:1 的蓝色荧光部分,得到流分 Fr. 17 (98.0 g)。继续收集 20:1~8:1 的洗脱液,在紫外灯下为绿色荧光,得到流分 Fr. 20 (103.0 g)。

Fr. 1 经硅胶柱色谱分离,以石油醚-二氯甲烷(1:1)为洗脱剂,得到化合物 2 (20.0 mg)。Fr. 8 经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(80:1)为洗脱剂,收集 254 nm 有荧光斑点但 365 nm 下无荧光斑点的流分 Fr. 8.1,经甲醇重结晶,得到化合物 3 (210.0 mg)。继续收集洗脱液,得到 365 nm 下强蓝色荧光流分 Fr. 8.2,经 Sephadex LH-20 进一步分离,以甲醇为洗脱剂,得到化合物 5 (7.1 mg)。Fr. 17 经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(60:1~30:1)梯度洗脱,得到 3 个流分 Fr. 17-1~17-3。Fr. 17-1 经甲醇重结晶得到化合物 6 (25.0 g)。Fr. 17-2 继续用硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-二乙胺(150:1)洗脱,得到化合物 6 (39.0 g)与流分 Fr. 17-2-2。Fr. 17-2-2 经硅胶制备薄层分离,以二氯甲烷-甲醇(9:1)为展开剂得到化合物 7 (2.1 mg)和 1 (8.0 mg)。Fr. 17-3 经 Sephadex LH-20 分离,用甲醇-水(4:1)洗脱,得到化合物 9 (1.1 mg)和 4 (0.9 mg)。Fr. 20 经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(15:1~10:1)为洗脱剂,得到流分 Fr. 20-1~20-3。Fr. 20-1 经硅胶制备薄层分离,以二氯甲烷-甲醇(8:1)展开得到化合物 8 (10.6 mg)。Fr. 20-2 经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇-二乙胺(100:1:1)为洗脱剂,得到流分 Fr. 20-2-1 和 Fr. 20-2-2。Fr. 20-2-1 再次经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(10:1)为洗脱剂,洗脱液减压浓缩后以甲醇重结晶得化合物 10 (72.0 g)。Fr. 20-3 经 ODS 柱色谱分离,以甲醇-水(1:1)洗脱得化合物 11 (30.0 mg)。Fr. 20-2-2 经硅胶制备薄层分离,展开缸氨水饱和后,以二氯甲烷-甲醇(15:1)展开得化合物 12 (3.0 mg)。

2.2 化合物 1 (氢溴酸盐)的合成

参考去氢骆驼蓬碱常用的 2 位成盐修饰^[1]。将 1 mmol (212.2 mg) 去氢骆驼蓬碱溶解于 50 mL 醋酸乙酯中,再加入 20 mmol (2.63 g) 溴甲基甲基醚,90 °C 回流 12 h, TLC 跟踪。反应完成后,停止回流,反应液冷却,过滤,适量醋酸乙酯洗涤。产物经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(5:1)洗脱,减压浓缩后得到白色晶体为化合物 1 的氢溴酸盐

(219.18 mg),收率为 65%。

2.3 HCT116 细胞毒性实验

取生长状态良好的细胞,加入胰蛋白酶消化,待完全消化后,加入 DMEM 完全培养基终止消化,移入无菌离心管,离心 5 min (转速为 3 000 r/min) 后弃上清,加入 2 mL 完全培养基,制备细胞混悬液。将细胞悬液充分吹打均匀后,取 20 μ L 细胞悬液加入到细胞计数板中,使用细胞计数仪进行计数,并用 DMEM 完全培养基将细胞悬液的浓度稀释到 1×10^5 /mL,种入 96 孔板中,每孔加入细胞混悬液 100 μ L。置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱培养。24 h 细胞贴壁后,加入相应剂量的药物刺激,设定 7~8 个浓度梯度。在药物刺激 24 h 后,吸出药物与培养基,将 CCK-8 与 DMEM 基础培养基按照 1:9 混合,96 孔板每孔加入 100 μ L CCK-8 稀释液,孵育 0.5~1.5 h 后,用全波长酶标仪检测各孔在 450 nm 波长下的吸光度 (A) 值,以不加药 A 值在 1 左右时终止孵化,每组设置 3 个复孔,重复 3 次。按照公式计算不同浓度梯度下的细胞存活率,以 Graphpad Prism 9 软件计算 IC₅₀。

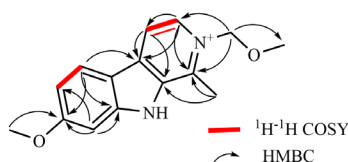
$$\text{细胞存活率} = (A_s - A_b) / (A_c - A_b)$$

A_s 为实验孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物溶液); A_c 为对照孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK-8 溶液,不含药物); A_b 为空白孔吸光度 (含培养基、CCK-8 溶液,不含细胞、药物)

3 结果

3.1 提取化合物的结构鉴定

化合物 1: 淡黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 257.128 27 [$M - Cl$]⁺ (计算值为 257.128 45), 分子式为 C₁₅H₁₇N⁺₂O₂Cl⁻。质谱二级碎片 m/z 213.102 16 提示结构可能为去氢骆驼蓬碱母核。氘代甲醇氢谱中 δ_H 8.25、7.17 及 7.08 为去氢骆驼蓬碱苯环 ABX 耦合系统质子信号, δ_H 8.54 及 8.36 的耦合常数 $J = 6.5$ Hz 为吡啶环 H-3 与 H-4 特征耦合, ¹H-¹H COSY 验证了上述邻位耦合关系 (图 3), 同时结合碳谱数据可确定此母核。与去氢骆驼蓬碱 (化合物 6) 氢碳信号相比, 多了 2 个氢信号 δ_H 3.46 (3H) 及 5.86 (2H), 2 个碳信号 δ_C 57.7 与 87.2, 推测存在 -OCH₃ 及 -N-CH₂-O-。氘代氯仿氢谱 δ_H 13.91 提示存在 1 个活泼氢, 为 N-9 位活泼氢。综上推测 -N-CH₂-O- 的 N 为 N-2 位。HMBC (CDCl₃) 中质子 δ_H 5.86 (H-16) 与 δ_C 130.9 (C-3) 和 139.1 (C-1) 以及甲氧基 δ_C 57.7 (C-17) 相关, 可确定甲氧基甲基侧链连在 N-2 位上 (图

图 3 化合物 1 的关键 ^1H - ^1H COSY、HMBC 相关信号Fig. 3 Key ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations of compound 1表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (400/600/100 MHz)Table 1 ^1H -and ^{13}C -NMR data of compound 1 (400/600/100 MHz)

碳位	δ_{H} (CD ₃ OD)	δ_{H} (CDCl ₃)	δ_{C} (CDCl ₃)	碳位	δ_{H} (CD ₃ OD)	δ_{H} (CDCl ₃)	δ_{C} (CDCl ₃)
1			139.1	10			135.7
2				11			132.6
3	8.54 (1H, d, J = 6.5 Hz)	8.06 (1H, d, J = 6.5 Hz)	130.9	12			115.0
4	8.36 (1H, d, J = 6.5 Hz)	7.89 (1H, d, J = 6.4 Hz)	112.9	13			148.2
5	8.25 (1H, d, J = 8.9 Hz)	7.84 (1H, d, J = 8.8 Hz)	123.3	14	3.15 (3H, s)	3.35 (3H, s)	16.0
6	7.08 (1H, dd, J = 8.9, 2.1 Hz)	6.92 (1H, d, J = 8.9 Hz)	113.4	15	3.99 (3H, s)	3.94 (3H, s)	56.2
7			164.3	16	5.99 (3H, s)	5.86 (3H, s)	87.2
8	7.17 (1H, d, J = 2.1 Hz)	7.34 (1H, s)	95.1	17	3.48 (3H, s)	3.46 (3H, s)	57.7
9		13.91 (1H, s)					

化合物 2: 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z : 391.283 91 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.08 (4H, s, H-2, 3, 5, 6), 4.30~4.19 (4H, m, H-1', 1''), 1.71 (2H, m, H-2', 2''), 1.49~1.41 (4H, m, H-3', 3''), 1.41~1.30 (12H, m, H-4', 4'', 5', 5'', 7', 7''), 0.93~0.86 (12H, m, H-6', 6'', 8', 8''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 166.0 (C=O), 134.3 (C-1, 4), 129.6 (C-2, 3, 5, 6), 67.8 (C-1', 1''), 39.0 (C-2', 2''), 30.7 (C-3', 3''), 29.1 (C-4', 4''), 24.1 (C-7', 7''), 23.1 (C-5', 5''), 14.1 (C-7', 7''), 11.2 (C-8', 8'')。以上波谱数据与文献对比基本一致^[12], 鉴定化合物 2 为对苯二甲酸二(2-乙基)己酯。

化合物 3: 白色晶体 (甲醇), ESI-MS m/z : 203.081 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.42~8.15 (1H, m, H-8), 7.87~7.67 (2H, m, H-5, 6), 7.49 (1H, m, H-7), 5.26 (1H, td, J = 7.0, 2.2 Hz, H-3), 4.37 (1H, m, H-1a), 4.04 (1H, m, H-1b), 2.88~2.54 (1H, m, H-2a), 2.44~2.14 (1H, m, H-2b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 160.7 (C-3a), 160.6 (C-9), 148.6 (C-4a), 134.6 (C-6), 127.1 (C-7), 126.8 (C-8), 126.7 (C-5), 121.1 (C-8a), 71.9 (C-3), 43.6 (C-1), 29.5 (C-2)。以上波谱数据与文献对比基本一致^[13], 鉴定化合物 3 为鸭嘴花酮碱。

化合物 4: 白色晶体 (甲醇), ESI-MS m/z :

3)。因谱图中未见其它含碳阴离子, 而提取方法为盐酸提取, 所以阴离子推断为氯离子。故该化合物鉴定为 1-甲基-2-甲氧甲基-7-甲氧基-9H-吡啶并[3,4-*b*]呋喃-2-盐酸盐, 经 SciFinder 检索, 为未见文献报道的新化合物, 命名为氮杂缩醛去氢骆驼蓬碱 A (azaacetal harmine A)。其 NMR 数据归属见表 1。另外, “2.2” 项进行了合成验证, 数据见 “3.2” 项。

189.198 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.39~7.32 (1H, m, H-5), 7.28 (1H, td, J = 7.5, 1.3 Hz, H-6), 7.21 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-7), 7.19~7.10 (1H, m, H-8), 5.12 (1H, t, J = 8.1 Hz, H-3), 4.87 (2H, m, H-9), 3.76 (1H, m, H-1 α), 3.67 (1H, dt, J = 10.8, 7.8 Hz, H-1 β), 2.66 (1H, dtd, J = 13.0, 7.6, 2.5 Hz, H-2 α), 2.12 (1H, dq, J = 12.9, 8.5 Hz, H-2 β); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 164.8 (C-3a), 132.2 (C-4a), 130.5 (C-6), 128.5 (C-8), 128.3 (C-7), 118.3 (C-8a), 118.2 (C-5), 72.6 (C-3), 52.0 (C-9), 47.5 (C-1), 30.9 (C-2)。以上波谱数据经文献对比基本一致^[13], 鉴定化合物 4 为鸭嘴花碱。

化合物 5: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 267.112 6 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.24 (1H, s, H-1), 7.46 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-9), 7.33 (1H, dd, J = 8.9, 7.0 Hz, H-15), 6.87 (1H, s, H-12), 6.83 (1H, dd, J = 8.7, 2.3 Hz, H-10), 6.48 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-16), 6.24 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-14), 4.44 (2H, t, J = 6.9 Hz, H-5), 3.87 (3H, s, H-18), 3.07 (2H, t, J = 7.0 Hz, H-6); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 163.8 (C-17), 157.9 (C-11), 138.6 (C-13), 135.6 (C-15), 120.5 (C-9), 118.0 (C-16), 115.6 (C-7), 111.2 (C-10), 98.9 (C-14), 94.8 (C-12), 55.8 (C-18), 40.4 (C-5)。以上波谱数据经文献对比一致^[14], 鉴定化合物 5 为

harmalanine。

化合物 **6**: 淡黄色针状晶体(甲醇), ESI-MS m/z : 213.192 0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{12}N_2O$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.10 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-3), 7.98 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.79 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-4), 7.04 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.87 (1H, dd, $J = 8.7, 2.3$ Hz, H-6), 3.91 (3H, s, H-15), 2.77 (3H, s, H-14); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 162.6 (C-7), 144.2 (C-1), 142.1 (C-13), 138.0 (C-3), 136.3 (C-10), 130.2 (C-11), 123.5 (C-5), 116.4 (C-12), 113.3 (C-4), 110.9 (C-6), 95.4 (C-8), 56.0 (C-15), 19.5 (C-14)。所得化合物的波谱数据经文献比对一致^[15], 鉴定化合物 **6** 为去氢骆驼蓬碱。

化合物 **7**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 183.028 5 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{12}H_{10}N_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.38 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-3), 8.12 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 7.83 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-4), 7.55 (2H, m, H-7, 8), 7.30 (1H, m, H-6), 2.84 (3H, s, H-14); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 141.8 (C-1), 140.1 (C-13), 138.8 (C-3), 134.6 (C-10), 128.3 (C-11), 128.2 (C-7), 122.1 (C-12), 121.9 (C-5), 120.1 (C-6), 112.9 (C-4), 111.6 (C-8), 20.4 (C-14)。以上波谱数据经文献比对一致^[16], 鉴定化合物 **7** 为哈尔满。

化合物 **8**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 199.101 8 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{10}N_2O$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.08 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-3), 7.92 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5), 7.77 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-4), 6.92 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.77 (1H, dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, H-6), 2.75 (3H, s, H-14); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 158.7 (C-7), 142.7 (C-13), 141.4 (C-1), 138.1 (C-3), 134.9 (C-10), 128.0 (C-11), 123.0 (C-5), 114.3 (C-12), 112.1 (C-4), 110.1 (C-6), 97.1 (C-8), 20.7 (C-14)。以上波谱数据经文献比对基本一致^[17], 鉴定化合物 **8** 为哈尔酚。

化合物 **9**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 169.165 6 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{11}H_8N_2$ 。 1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 12.50 (1H, s, N-H), 9.19 (1H, s, H-1), 8.60 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, H-3), 8.52 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-4), 8.44 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.79~7.74 (1H, m, H-8), 7.74~7.70 (1H, m, H-7), 7.39 (1H, ddd, $J = 8.0, 6.8, 1.1$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 142.7 (C-12), 135.0 (C-3), 131.7 (C-1), 131.5 (C-10), 130.6 (C-11), 128.8 (C-12), 123.0 (C-7), 120.7 (C-5), 119.7 (C-6),

116.6 (C-4), 112.7 (C-8)。所得化合物的波谱数据经文献比对一致^[18], 鉴定化合物 **9** 为 norharmame。

化合物 **10**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 215.117 7 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{14}N_2O$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 12.56 (1H, s, -NH), 7.44 (1H, dd, $J = 9.1, 2.6$ Hz, H-5), 7.07 (1H, s, H-8), 6.83 (1H, dd, $J = 9.1, 2.4$ Hz, H-6), 3.91 (2H, t, $J = 8.8$ Hz, H-3), 3.85 (3H, d, $J = 2.6$ Hz, H-15), 3.17 (2H, td, $J = 9.0, 8.6, 2.5$ Hz, H-4), 3.06~3.00 (3H, m, H-14); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 157.6 (C-1), 157.2 (C-7), 138.0 (C-13), 129.0 (C-11), 120.3 (C-10), 119.9 (C-5), 115.0 (C-12), 110.7 (C-6), 95.0 (C-8), 55.6 (C-15), 48.1 (C-3), 22.5 (C-14), 19.6 (C-4)。以上波谱数据经文献比对一致^[19], 鉴定化合物 **10** 为骆驼蓬碱。

化合物 **11**: 灰白色粉末, ESI-MS m/z : 217.243 5 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{13}H_{16}N_2O$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.48 (1H, s, -NH), 7.20 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.78 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.59 (1H, dd, $J = 8.6, 2.3$ Hz, H-6), 3.96 (1H, q, $J = 6.8$ Hz, H-1), 3.73 (3H, s, H-15), 3.12 (1H, dt, $J = 12.5, 4.5$ Hz, H-3), 2.80 (1H, ddd, $J = 12.9, 8.6, 4.9$ Hz, H-4a), 2.63~2.52 (1H, m, H-4b), 1.32 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-14); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 155.0 (C-7), 137.0 (C-13), 136.2 (C-10), 121.6 (C-12), 117.9 (C-5), 107.7 (C-6), 106.5 (C-11), 94.6 (C-8), 55.2 (C-15), 47.8 (C-1), 42.2 (C-3), 22.5 (C-4), 20.6 (C-14)。以上波谱数据经文献比对一致^[19], 鉴定化合物 **11** 为四氢骆驼蓬碱。

化合物 **12**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 201.127 6 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{12}H_{12}N_2O$ 。 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 11.86 (1H, s, -NH), 9.96 (1H, s, -OH), 7.50 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 6.82 (1H, s, H-8), 6.70 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 3.75 (2H, t, $J = 8.7$ Hz, H-4), 2.99 (2H, t, $J = 8.7$ Hz, H-3), 2.53 (3H, s, H-14); ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 164.4 (C-1), 159.1 (C-7), 142.9 (C-13), 125.4 (C-10), 123.1 (C-11), 118.2 (C-12), 114.2 (C-6), 96.2 (C-8), 41.8 (C-3), 19.1 (C-14), 18.5 (C-4)。以上谱数据经文献比对一致^[20], 鉴定化合物 **12** 为骆驼蓬酚。

3.2 合成化合物 **1** (氢溴酸盐) 的鉴定

化合物 **1** (氢溴酸盐): 白色晶体 (甲醇), HR-ESI-MS m/z : 257.128 30 $[M - Br]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{17}N^+_2O_2Br^-$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.54 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-3), 8.35 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-4),

8.25 (1H, m, H-5), 7.17 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 7.06 (1H, dd, $J = 8.9, 2.6$ Hz, H-6), 5.99 (2H, s, H-16), 3.99 (3H, s, H-15), 3.48 (3H, s, H-17), 3.15 (3H, s, H-14)。其质谱、氢谱数据与化合物 **1** 的相同。去氢骆驼蓬碱的 2 位成盐修饰较为常见, 所以通过比对分离的天然化合物 **1** 及合成化合物的质谱、氢谱亦可辅助验证化合物 **1** 的结构推测。

3.3 HCT116 细胞毒性实验

HCT116 细胞体外实验抑制结果 (表 2) 显示, 3 个化合物在一定浓度下均具有一定的抗癌活性。化合物 **1**、**2**、**5** 的 IC_{50} (24 h) 分别为 (88.49 ± 4.65) 、 (113.91 ± 12.19) 、 (36.41 ± 1.91) $\mu\text{mol/L}$ 。阳性药顺铂的 IC_{50} 为 (6.63 ± 0.22) $\mu\text{mol/L}$ 。

表 2 化合物 **1**、**2**、**5** 对 HCT116 细胞的 IC_{50}

Table 2 IC_{50} of compounds **1**, **2** and **5** on HCT116 cells

化合物	$IC_{50}/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$
1	88.49 ± 4.65
2	113.91 ± 12.19
5	36.41 ± 1.91
顺铂	6.63 ± 0.22

4 讨论

本研究通过对骆驼蓬子醇提-酸溶碱沉的总生物碱进行分离, 得到了 12 个化合物。化合物 **1** 为新化合物, 而化合物 **2** 为从骆驼蓬植物中首次分离得到。HCT116 细胞体外抗增殖实验表明, 化合物 **1** 和化合物 **2** 对 HCT116 细胞的抑制能力并不强, 而具有较强共轭系统的化合物 **5** 对其具有潜在的抑制能力, 24 h 的 IC_{50} 为 (36.41 ± 1.91) $\mu\text{mol/L}$ 。本实验不仅丰富了骆驼蓬子的化学成分信息, 亦为其药用价值提供了一定的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Khan F A, Maalik A, Iqbal Z, *et al.* Recent pharmacological developments in β -carboline alkaloid "harmaline" [J]. *Eur J Pharmacol*, 2013, 721(1/2/3): 391-394.
- [2] Wang K B, Hu X, Li S G, *et al.* Racemic indole alkaloids from the seeds of *Peganum harmala* [J]. *Fitoterapia*, 2018, 125: 155-160.
- [3] 王长虹, 刘军, 郑立明, 等. 不同产地骆驼蓬不同药用部位中生物碱的含量分析 [J]. *中国药学杂志*, 2002, 37(3): 211-215.
- [4] Asgarpanah J. Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. [J]. *Afr J Pharm Pharmacol*, 2012, 6(22): 1573-1580.
- [5] Chen Q, Chao R H, Chen H S, *et al.* Antitumor and

neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis [J]. *Int J Cancer*, 2005, 114(5): 675-682.

- [6] 薛林贵, 赵国林, 张宝芹, 等. 多裂骆驼蓬生物碱的提取及抗菌活性研究 [J]. *中兽医医药杂志*, 2007, 26(3): 16-19.
- [7] Zhu Z H, Zhao S J, Wang C H. Antibacterial, antifungal, antiviral, and antiparasitic activities of *Peganum harmala* and its ingredients: A review [J]. *Molecules*, 2022, 27(13): 4161.
- [8] Farzin D, Mansouri N. Antidepressant-like effect of harmine and other beta-carbolines in the mouse forced swim test [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2006, 16(5): 324-328.
- [9] He D D, Wu H, Wei Y, *et al.* Effects of harmine, an acetylcholinesterase inhibitor, on spatial learning and memory of APP/PS1 transgenic mice and scopolamine-induced memory impairment mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 768: 96-107.
- [10] Monsef H R, Ghobadi A, Iranshahi M, *et al.* Antinociceptive effects of *Peganum harmala* L. alkaloid extract on mouse formalin test [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2004, 7(1): 65-69.
- [11] 新疆华世丹药物研究有限责任公司. 去氢骆驼蓬碱衍生物及其应用: 中国, CN200710180027.3. [P]. 2009-05-13.
- [12] 马子玉, 卢青秀, 年贺凤, 等. 多花山竹子果实化学成分研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(1): 17-21.
- [13] 罗晴方, 王文祥, 干志强, 等. 藏药鸭嘴花的化学成分研究 [J]. *中药材*, 2020, 43(8): 1890-1893.
- [14] Siddiqui S, Yusuf K O, Faizi S, *et al.* Studies in the chemical constituents of the seeds of *Pegnum harmala*: Isolation and structure elucidation of two b-carboline lactams-harmalanine and harmalacidine [J]. *Heterocycles*, 1988, 27(6): 1401.
- [15] 孙倩倩, 杜裕, 刘明, 等. 去氢骆驼蓬碱对线虫神经毒性机制的内源性代谢研究 [J]. *质谱学报*, 2021, 42(5): 975-984.
- [16] Levesque J, Jacquesy R, Pierre Foucher J. Alcoyl-glucosides: Nouveaux composés isolés de *Pauridiantha lyalii brem* (rubiacées) [J]. *Tetrahedron*, 1982, 38(10): 1417-1424.
- [17] Yang Y D, Cheng X M, Liu W, *et al.* Peganumine B—I and two enantiomers: New alkaloids from the seeds of *Peganum harmala* Linn. and their potential cytotoxicity and cholinesterase inhibitory activities [J]. *RSC Adv*, 2016, 6(19): 15976-15987.
- [18] Ying Y M, Shan W G, Liu W H, *et al.* Alkaloids and nucleoside derivatives from a fungal endophyte of *Huperzia serrata* [J]. *Chem Nat Compd*, 2013, 49(1): 184-186.
- [19] 段金彪, 周荣汉, 赵守训, 等. 多裂骆驼蓬化学成分研究 I. 种子生物碱类成分及其抗肿瘤活性 [J]. *中国药科大学学报*, 1998, 29(1): 21-23.
- [20] Coune C, Angenot L, Denoël J. ^{13}C NMR des alcaloïdes des *Strychnos*: Les dérivés de l'harmine et de l'usambarensine [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19(9): 2009-2011.

[责任编辑 王文倩]