

娇嫩黄堇中 2 个新生物碱成分

黄昕玥¹, 熊邵文¹, 李远飞¹, 姜雨辰¹, 崔佳¹, 李康², 李丽梅^{1*}

(1. 西南民族大学 药学与食品学院, 四川 成都 610041;

2. 西藏自治区人民医院 高原医学研究所, 西藏 拉萨 850000)

摘要 该研究通过综合运用硅胶、碱性氧化铝柱色谱等多种色谱技术对娇嫩黄堇总生物碱进行分离和纯化,并借助核磁共振(1D/2D NMR)、高分辨质谱(HR-ESI-MS)及X-射线单晶衍射等现代波谱解析技术对所得单体化合物进行结构鉴定。从娇嫩黄堇的总生物碱中分离鉴定 9 个生物碱,其中包括 2 个新化合物 corlicatine (1)、*N*-methyl-13-oxoprotopine (2) 和 7 个已知化合物:(+)-ochotensine (3)、rupestrine A (4)、(+)-ochotensimine (5)、oxohydrastinine (6)、 α -magnoflorine (7)、6,7-methylenedioxy-*N*-methyloquinoline (8)、*N*-methyl-6,7-dimethoxyisoquinoline (9)。对所有化合物进行乙酰胆碱酯酶抑制活性筛选,结果显示化合物 4 表现出一定的乙酰胆碱酯酶抑制作用,进一步通过分子对接分析其结合模式。研究结果为阐明娇嫩黄堇的药用物质基础提供了重要依据。

关键词 娇嫩黄堇; 紫堇属; 生物碱; corlicatine; *N*-methyl-13-oxoprotopine

Two new alkaloids from *Corydalis delicatula*

HUANG Xin-yue¹, XIONG Shao-wen¹, LI Yuan-fei¹, JIANG Yu-chen¹, CUI Jia¹, LI Kang², LI Li-mei^{1*}

(1. College of Pharmacy and Food, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China;

2. High Altitude Medical Research Institute, People's Hospital of Xizang Autonomous Region, Lhasa 850000, China)

[Abstract] In this study, the total alkaloids of *Corydalis delicatula* were isolated and purified by a combination of silica gel, aluminum oxide basic column chromatography and other chromatographic techniques. The obtained compounds were structurally identified with the help of modern spectral resolution techniques such as nuclear magnetic resonance (1D/2D NMR), high-resolution mass spectrometry (HR-ESI-MS), and single crystal X-ray diffraction. Nine alkaloids were obtained from the total alkaloids of *C. delicatula*, encompassing two new compounds, corlicatine (1) and *N*-methyl-13-oxoprotopine (2), and seven known ones: (+)-ochotensine (3), rupestrine A (4), (+)-ochotensimine (5), oxohydrastinine (6), α -magnoflorine (7), 6,7-methylenedioxy-*N*-methyloquinoline (8), and *N*-methyl-6,7-dimethoxyisoquinoline (9). The inhibitory activities of the compounds against acetylcholinesterase were evaluated, with compound 4 exhibiting moderate inhibition. Molecular docking was further performed to elucidate the binding mode of this compound. The results provide a basis for elucidating the medicinal substance basis of *C. delicatula*.

[Key words] *Corydalis delicatula*; *Corydalis*; alkaloid; corlicatine; *N*-methyl-13-oxoprotopine

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20251010.201

娇嫩黄堇 *Corydalis delicatula* D.G. Long 属于罂粟科 Papaveraceae 紫堇属 *Corydalis* 多年生草本植

物,主要分布于不丹和我国西藏中南部(朗县)海拔 2 740~3 200 m 的林下^[1]。该属植物在传统医药中

收稿日期 2025-07-17

基金项目 国家自然科学基金项目(U23A20516); 国家民委中青年英才培养计划项目; 中央高校基本科研业务费专项资金项目(ZYN2024193)

通信作者 * 李丽梅, E-mail: limeili@swun.edu.cn

作者简介 黄昕玥, 硕士研究生, E-mail: 3188584313@qq.com

具有重要地位^[3],其主要活性成分包括异喹啉类生物碱、黄酮类化合物及其他非生物碱类成分^[3]。这些成分赋予了紫堇属植物多种药理活性,如抗炎、镇痛、抗肿瘤、抗菌、抗病毒、保护心脑血管及抗血小板凝集等^[4-7]。在临床应用方面,紫堇属植物被广泛用于治疗肝炎、胆囊炎、高血压病、脑血管意外引起的偏瘫、风湿性关节炎、胃溃疡等^[8-9]。例如,赛北紫堇的总生物碱被用于治疗肝炎和肝癌,并显示出显著的抗炎和镇痛作用^[10-11]。此外,夏天无注射液被用于治疗高血压病、中风后遗症及坐骨神经痛等^[12-14]。然而,相较于该属其他广受关注的物种(如延胡索 *C. yanhusuo*),娇嫩黄堇的化学成分及生物活性研究仍较为匮乏,其潜在的药用价值尚未得到充分挖掘。本研究以娇嫩黄堇为研究对象,对其生物碱成分进行了研究,从中共分离鉴定了 9 个生物碱类化合物(图 1)。采用 Ellman 改良法对所有化合物进行了乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制活性筛选,并进一步通过分子对接技术研究了活性化合物与 AChE 活性位点的相互作用模式。该研究旨在阐明其化学物质基础及潜在作用机制,为后续药理活性研究及资源开发利用提供科学依据。研究结果不仅丰富了紫堇属植物的化学成分数据库,其 AChE 抑制活性的发现也为阿尔茨海默病药物研发和高山药用植物资源的可持续利用提供了新的研究方向。

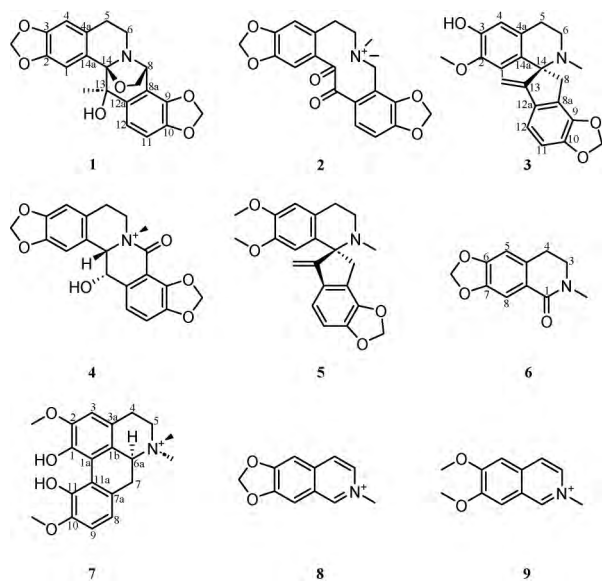


图 1 化合物 1~9 的结构

Fig.1 Structures of compounds 1-9

1 材料

Büchi R-400 旋转蒸发仪(瑞士 BUCHI 公司); 341 polarimeter 旋光仪(美国 PerkinElmer 公司); TU-4901 双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); Avance III-400 型核磁共振仪、Vion IMS QToF 质谱仪(上海沃特世科技有限公司); Xcalibur E X 射线单晶衍射仪(英国 Oxford 公司); 工业级甲醇、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯(成都力信和化工有限责任公司); 碱性氧化铝(成都市科隆化学品有限公司); 柱色谱硅胶(青岛海洋化工有限公司); Sephadex-LH-20 分子筛(美国 GE Healthcare 公司); LC-16 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 分析型色谱柱 Cosmosil 5C₁₈-MS-II(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 制备型色谱柱 SunFire™ C₁₈ OBD™ Prep(10 mm×250 mm, 10 μm)。

娇嫩黄堇全草 2019 年 7 月采自云南腾冲,由西南民族大学药学与食品学院吕露阳副教授鉴定为娇嫩黄堇 *C. delicatula*,标本(No. LMCD1907)存放于西南民族大学药学与食品学院。

2 提取分离

干燥的娇嫩黄堇(10 kg)粉碎后经甲醇 60℃ 热提 3 次,浸泡时间依次为 48、24、24 h,提取液减压浓缩得到浸膏。将浸膏分散于 2% 的 HCl 溶液中,所得酸提取液合并后用氯仿等体积萃取 3 次,酸水层用氨水碱化(pH 9~10)后抽滤,除去固体杂质,滤液依次用氯仿和正丁醇分别萃取 3 次,将各萃取相减压浓缩回收溶剂,分别得到氯仿部分(总生物碱, 155.8 g)、正丁醇部分(157.7 g)和水相部分(1.4 kg)。总生物碱采用硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(1:0~0:1)体系梯度洗脱,分离出 7 个组分,即 1A~1G。组分 1B(6.9 g)进一步使用二次硅胶柱色谱(石油醚-二氯甲烷 1:0~10:1)进行纯化,期间析出黄色针状结晶,即化合物 1(13.6 mg)。组分 1C(9.5 g)经过碱性氧化铝柱色谱(石油醚-乙酸乙酯 25:1)纯化后得到化合物 3(16.6 mg)、4(17.8 mg)。组分 1H(40.2 g)使用碱性氧化铝(二氯甲烷-甲醇 1:0~10:1)梯度洗脱得到 1H-1 和 1H-2 2 个组分。组分 1H-1(2.3 g)析出白色粉末结晶,即化合物 2(200.0 mg);组分 1H-2(3.2 g)进一步通过碱性氧化铝柱色谱(石油醚-二氯甲烷 10:1)处理,最终获得化合物 5(34.5 mg)。正丁醇部分选用 MCI 柱以甲醇-水(0:1~1:0)为洗脱剂梯度洗脱,得到组分 2A~

2C。2C 段用 Sephadex LH-20(甲醇) 柱色谱纯化后经半制备高效液相色谱(3 mL·min⁻¹, 甲醇-水 50:50) 得到化合物 6(4.0 mg, t_R = 12.5 min)。水相提取物经大孔树脂洗脱(甲醇-水 0:1~1:0), 得到组分 3A 与 3B。组分 3A 经 Sephadex LH-20(甲醇) 柱色谱与制备高效液相色谱(10 mL·min⁻¹, 甲醇-水 20:80) 分离纯化, 最终得到化合物 7(52.0 mg, t_R = 9.5 min)。组分 3B 以碱性氧化铝柱(二氯甲烷-甲醇 1:0~0:1) 进行初步洗脱, 得到后续待分离流分 3B-1 与 3B-2。流分 3B-1 经制备高效液相色谱(10 mL·min⁻¹, 甲醇-水 25:75) 纯化得到化合物 8(39.4 mg, t_R = 8.5 min); 流分 3B-2 选用 Sephadex LH-20(甲醇) 柱色谱与制备高效液相色谱(10 mL·min⁻¹, 甲醇-水 40:60) 得到化合物 9(12.1 mg, t_R = 22.5 min)。

3 结构鉴定

化合物 1 淡黄色粉末, $[\alpha]_D^{20} + 292^\circ$ (c 0.1, MeOH), HR-ESI-MS m/z 382.128 5 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{21}H_{19}NO_6$, 381.121 2), 结合 ^{13}C -NMR 数据确定其分子式为 $C_{21}H_{19}NO_6$, 不饱和度为 13; UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 288 (3.45), 237 (3.52), 208 (4.21) nm, 显示出异喹啉生物碱的特征吸收峰。 1H -NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) 谱图(表 1) 可观察到以下特征氢信号: 2 个芳香氢单峰 δ_H 7.50 (1H, s, H-1), 6.71 (1H, s, H-4), 表明为 2 个苯

环上对位氢; 2 个芳香氢双峰 δ_H 6.93 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-12), 6.80 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-11), 提示 1 对邻位偶合氢; 4 个亚甲二氧基氢信号 δ_H 6.05 (1H, s, 9,10-OCH₂O-), 5.96 (1H, s, 9,10-OCH₂O-), 5.98 (1H, s, 2,3-OCH₂O-), 5.97 (1H, s, 2,3-OCH₂O-); 2 个连氧亚甲基氢信号 δ_H 4.00 (1H, m, -OCH₂-), 3.61 (1H, d, J = 6.7 Hz, -OCH₂-); 4 个亚甲基氢信号 δ_H 3.03 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-6), 2.55 (1H, m, H-6), 2.74 (1H, m, H-5), 2.61 (1H, m, H-5); 1 个次甲基氢信号 δ_H 4.46 (1H, d, J = 3.4 Hz, H-8); 1 个甲基氢信号 δ_H 0.98 (3H, s, -CH₃) 以及 1 个羟基氢信号 δ_H 5.02 (1H, s, -OH)。 ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 150 MHz) 谱(表 1) 中共显示出 21 个碳信号, 分别是 12 个芳香碳信号 δ_C 146.2 (C-3), 144.9 (C-2), 144.8 (C-10), 139.8 (C-9), 137.3 (C-12a), 129.6 (C-4a), 126.8 (C-14a), 120.8 (C-8a), 120.7 (C-12), 109.3 (C-1), 107.1 (C-11), 106.9 (C-4); 2 个亚甲二氧基碳信号 δ_C 100.9 (9, 10-OCH₂O-), 100.6 (2, 3-OCH₂O-); 2 个连氧季碳信号 δ_C 99.0 (C-14), 77.5 (C-13); 2 个亚甲基碳信号 δ_C 45.4 (C-6), 29.3 (C-5); 1 个次甲基碳信号 δ_C 60.0 (C-8); 1 个甲基碳信号 δ_C 28.2 (-CH₃) 和 1 个连氧仲碳信号 δ_C 68.3 (-OCH₂-)。

表 1 化合物 1 和 2 的 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据(DMSO- d_6)

Table 1 1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compounds 1 and 2 (DMSO- d_6)

No.	1 ¹⁾		2 ²⁾	
	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
1	109.3	7.50 (1H, s)	111.6	7.03 (1H, s)
2	144.9	—	145.3	—
3	146.2	—	150.7	—
4	106.9	6.71 (1H, s)	107.8	7.68 (1H, s)
4a	129.6	—	133.4	—
5	29.3	2.74 (1H, m); 2.61 (1H, m)	26.9	3.28 (2H, m)
6	45.4	3.03 (1H, d, J = 9.6 Hz); 2.55 (1H, m)	63.0	3.65 (2H, m)
8	60.0	4.46 (1H, d, J = 3.4 Hz)	69.0	5.43 (2H, s)
8a	120.8	—	112.9	—
9	139.8	—	145.7	—
10	144.8	—	150.0	—
11	107.1	6.80 (1H, d, J = 8.1 Hz)	106.9	6.92 (1H, d, J = 7.9 Hz)
12	120.7	6.93 (1H, d, J = 8.1 Hz)	123.1	7.01 (1H, d, J = 8.2 Hz)
12a	137.3	—	127.5	—
13	77.5	—	188.1	—
14	99.0	—	192.0	—
14a	126.8	—	132.2	—
-OCH ₂ O-	100.6	5.98 (1H, s); 5.97 (1H, s)	102.2	6.12 (2H, s)
-OCH ₂ O-	100.9	6.05 (1H, s); 5.96 (1H, s)	101.7	6.06 (2H, s)
-CH ₃	28.2	0.98 (3H, s)	48.7	3.18 (6H, s)
-OCH ₂ -	68.3	4.00 (1H, m); 3.61 (1H, d, J = 6.7 Hz)		
-OH		5.02 (1H, s)		

注: ¹⁾ 1H -NMR (400 MHz) / ^{13}C -NMR (150 MHz); ²⁾ 1H -NMR (600 MHz) / ^{13}C -NMR (150 MHz)。

进一步分析其 HMBC 谱(图 2), 单峰芳香氢 δ_{H} 7.50 (H-1) 与 δ_{C} 99.0 (C-14), 129.6 (C-4a), 144.9 (C-2), 146.2 (C-3) 相关, δ_{H} 6.71 (H-4) 与 δ_{C} 29.3 (C-5), 126.8 (C-14a), 144.9 (C-2), 146.2 (C-3) 相关; 双峰芳香氢 δ_{H} 6.93 (H-12) 与 δ_{C} 77.5 (C-13), 144.8 (C-10) 相关, δ_{H} 6.80 (H-11) 与 δ_{C} 137.3 (C-12a), 139.8 (C-9) 相关; 亚甲二氧基氢 δ_{H} 6.05, 5.96 (9,10-OCH₂O-) 与 δ_{C} 139.8 (C-9), 144.8 (C-10) 相关, δ_{H} 5.98, 5.97 (2,3-OCH₂O-) 与 δ_{C} 146.2 (C-3), 144.9 (C-2) 相关。结合 NMR 数据推断化合物 1 的结构中包含异喹啉片段, 且 2 个亚甲二氧基分别耦合于 2 个苯环。次甲基氢 δ_{H} 4.46 (H-8) 与 δ_{C} 45.4 (C-6), 99.0 (C-14), 120.8 (C-8a), 137.3 (C-12a), 139.8 (C-9) 均有相关信号, 这表明 δ_{C} 60.0 (C-8) 连接了异喹啉片段与苯环片段。此外, δ_{H} 3.61 (-OCH₂-) 与连氧季碳 δ_{C} 99.0 (C-14) 之间存在相关信号, δ_{H} 4.46 (H-8) 与 δ_{C} 68.3 (-OCH₂-) 也有相关, 表明 δ_{C} 60.0 (C-8) 与 δ_{C} 68.3 (-OCH₂-) 相连, 即 δ_{C} 60.0 (C-8)、68.3 (-OCH₂-) 连接在 N 和 O 之间并形成了桥环。结合 δ_{H} 0.98 (-CH₃)、 δ_{H} 5.02 (-OH) 和 δ_{C} 77.5 (C-13) 的相关信号, 表明化合物 1 属于原小檗碱型异喹啉生物碱, 类似于 solidaline^[13], 区别在于化合物 1 中含有 2 个亚甲二氧基, 而非 solidaline 中的 4 个甲氧基。在 ROESY 谱中(图 3), δ_{H} 5.02 (-OH) 与 δ_{H} 3.61 (-OCH₂-) 存在相关, δ_{H} 2.55 (H-6 β) 与 δ_{H} 4.00 (-OCH₂-) 有相关, δ_{H} 3.03 (H-6 α) 与 δ_{H} 4.46 (H-8) 相关, 推测 H-8 和 13-CH₃ 可能为 α 构型, 最后采用 X 射线单晶衍射实验确定了化合物 1 的结构(图 4), 命名为 corlicatine。

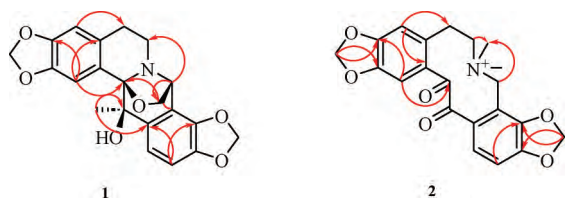


图 2 化合物 1 和 2 的关键 HMBC 相关

Fig.2 Key HMBC correlations of compounds 1 and 2

化合物 2 淡黄色粉末, HR-ESI-MS m/z 382.129 6 (计算值 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{NO}_6^+$, 382.128 5), 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{NO}_6^+$, UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ): 327 (1.69), 266 (1.18)

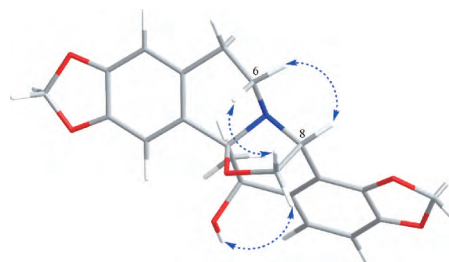


图 3 化合物 1 的关键 ROESY 相关

Fig.3 Key ROESY correlations of compound 1

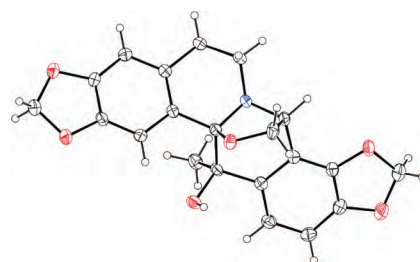


图 4 化合物 1 的单晶衍射

Fig.4 X-ray crystal structure of compound 1

nm, 对化合物 2 和 13-oxoprotopine^[14] 的 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据进行系统比较, 发现两者在化学位移及 $^1\text{H-NMR}$ 信号裂分模式上高度相似, 提示化合物 2 可能为 13-oxoprotopine 的结构类似物。然而, 关键差异体现在化合物 2 的相对分子质量增加了 15 个质量单位, 对应于 1 个甲基单位的质量增量。进一步分析其核磁数据发现, C-6 (δ_{C} 63.0) 和 C-8 (δ_{C} 69.0) 的碳信号相较于 13-oxoprotopine 均发生显著的低场位移。更重要的是, 在 $^1\text{H-NMR}$ 谱(表 1)中 δ_{H} 3.18 (6H, s) 处出现 1 个单峰信号, 对应 6 个质子, 提示可能存在 2 个化学环境等效的甲基, 并且该化学位移特征提示该甲基连接于氮原子上。在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中, 相应的氮甲基碳信号出现在 δ_{C} 48.7。为确证该甲基的连接位置, 系统解析了化合物 2 的 HMBC 谱图(图 2)。在 HMBC 谱中观察到 H-6 (δ_{H} 3.65) 和 H-8 (δ_{H} 5.43) 均与 N-CH₃ 中的碳信号 δ_{C} 48.7 存在相关信号, 这一结果充分证实该甲基确系连接于氮原子上。此外, HMBC 谱中的其他相关信号与 13-oxoprotopine 基本一致(图 2), 表明化合物 2 保留了与其相同的核心骨架。综上所述, 化合物 2 被鉴定为 *N*-methyl-13-oxoprotopine。

化合物 3 黄色固体, $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ_{H} : 8.80 (1H, s, 3-OH), 7.19 (1H, d, J =

8.0 Hz, H-12), 6.88 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-11), 6.44 (1H, s, H-4), 6.12 (1H, s, H-1), 6.05 (2H, d, $J=4.0$ Hz, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.65 (1H, s, $=\text{CH}_2$), 4.72 (1H, s, $=\text{CH}_2$), 3.46 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.32 (1H, m, H-8), 2.82 (1H, m, H-8), 2.69~2.82 (2H, m, H-6), 2.59~2.69 (2H, m, H-5), 1.98 (3H, s, $\text{N}-\text{CH}_3$); $^{13}\text{C}-\text{NMR}$ (DM-SO- d_6 , 100 MHz) δ_{C} : 155.2 (C-13), 147.7 (C-10), 146.0 (C-2), 145.0 (C-3), 142.5 (C-9), 136.5 (C-12a), 134.4 (C-14a), 126.0 (C-4a), 123.2 (C-8a), 114.3 (C-4), 113.6 (C-12), 110.5 (C-1), 107.9 (C-11), 106.1 ($=\text{CH}_2$), 101.2 ($-\text{OCH}_2\text{O}-$), 71.1 (C-14), 55.8 ($-\text{OCH}_3$), 47.3 (C-6), 38.5 ($\text{N}-\text{CH}_3$), 36.8 (C-8), 28.3 (C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 3 为 (+) -ochotensine。

化合物 4 $^1\text{H}-\text{NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ_{H} : 7.13 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-12), 6.93 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-11), 6.66 (1H, s, H-1), 6.39 (1H, s, H-4), 6.09 (2H, s, 9, 10- $\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.84 (2H, s, 2, 3- $\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.61 (1H, d, $J=3.2$ Hz, H-13), 4.01 (1H, d, $J=3.1$ Hz, H-14), 3.06 (1H, m, H-6), 2.74 (1H, m, H-5), 2.52 (3H, s, $\text{N}-\text{CH}_3$), 2.48 (1H, m, H-6), 2.43 (1H, m, H-5); $^{13}\text{C}-\text{NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ_{C} : 167.5 (C-8), 149.0 (C-9), 146.5 (C-3), 146.0 (C-2), 144.3 (C-10), 141.0 (C-12a), 130.2 (C-4a), 125.3 (C-14a), 116.0 (C-12), 113.0 (C-11), 110.1 (C-8a), 108.3 (C-4), 107.7 (C-1), 103.2 (9, 10- $\text{OCH}_2\text{O}-$), 100.9 (2, 3- $\text{OCH}_2\text{O}-$), 83.0 (C-13), 66.3 (C-14), 51.5 (C-6), 45.1 ($\text{N}-\text{CH}_3$), 29.3 (C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 4 为 rupestrine A。

化合物 5 黄色固体, $^1\text{H}-\text{NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ_{H} : 7.13 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-12), 6.81 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-11), 6.55 (1H, s, H-4), 6.31 (1H, s, H-1), 6.01 (2H, s, 9, 10- $\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.65 (1H, s, $=\text{CH}_2$), 4.91 (1H, s, $=\text{CH}_2$), 3.87 (3H, s, 2- OCH_3), 3.65 (3H, s, 3- OCH_3), 3.46 (1H, d, $J=17.8$ Hz, H-8), 3.08 (1H, m, H-6), 2.72~2.98 (4H, m, H-5, 6, 8), 2.15 (3H, s, $\text{N}-\text{CH}_3$); $^{13}\text{C}-\text{NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ_{C} : 155.5 (C-

13), 148.1 (C-9), 147.5 (C-10), 147.4 (C-3), 142.9 (C-2), 137.1 (C-14a), 135.9 (C-12a), 126.1 (C-4a), 123.8 (C-8a), 113.5 (C-12), 110.3 (C-1), 110.3 (C-4), 108.0 (C-11), 106.8 ($=\text{CH}_2$), 101.3 ($-\text{OCH}_2\text{O}-$), 71.9 (C-14), 56.1 (2- OCH_3), 55.8 (3- OCH_3), 48.1 (C-6), 39.0 ($\text{N}-\text{CH}_3$), 37.0 (C-8), 29.1 (C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 5 为 (+) -ochotensimine。

化合物 6 白色固体, $^1\text{H}-\text{NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ_{H} : 7.33 (1H, s, H-8), 6.72 (1H, s, H-5), 5.99 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 3.56 (2H, t, $J=6.8$ Hz, H-3), 3.10 (3H, s, $\text{N}-\text{CH}_3$), 2.92 (2H, t, $J=6.8$ Hz, H-4)。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 6 为 oxohydrastinine。

化合物 7 白色固体, $^1\text{H}-\text{NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ_{H} : 6.70 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-9), 6.51 (2H, d, $J=9.7$ Hz, H-8, 3), 3.84 (3H, s, 10- OCH_3), 3.79 (3H, s, 2- OCH_3), 3.31 (2H, s, H-5), 3.23 (3H, s, $\alpha-\text{CH}_3$), 2.80 (3H, s, $\beta-\text{CH}_3$); $^{13}\text{C}-\text{NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) δ_{C} : 153.0 (C-2), 151.6 (C-10), 150.8 (C-1), 149.8 (C-11), 126.0 (C-7a), 123.5 (C-11a), 123.5 (C-4a), 121.0 (C-1b), 117.0 (C-8), 115.8 (C-3a), 110.4 (C-9), 109.3 (C-3), 71.1 (C-6a), 62.3 (C-5), 56.3 (2- OCH_3), 56.0 (10- OCH_3), 53.8 ($\alpha-\text{CH}_3$), 43.5 ($\beta-\text{CH}_3$), 31.7 (C-7), 24.6 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 7 为 α -magnoflorine。

化合物 8 黄色固体, $^1\text{H}-\text{NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ_{H} : 9.35 (1H, s, H-1), 8.36 (1H, d, $J=6.7$ Hz, H-3), 8.18 (1H, d, $J=6.7$ Hz, H-4), 7.60 (1H, s, H-5), 7.55 (1H, s, H-8), 6.36 (2H, s, 6,7- $\text{OCH}_2\text{O}-$), 4.40 (3H, s, $\text{N}-\text{CH}_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 8 为 6,7-methylenedioxy-*N*-methyloquinoline。

化合物 9 无色针状晶体, $^1\text{H}-\text{NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ_{H} : 9.36 (1H, s, H-1), 8.34 (1H, d, $J=6.8$ Hz, H-3), 8.19 (1H, d, $J=6.8$ Hz, H-4), 7.69 (1H, s, H-8), 7.64 (1H, s, H-5), 4.42 (3H, s, $\text{N}-\text{CH}_3$), 4.11 (3H, s, 7- OCH_3), 4.06 (3H, s, 6- OCH_3); $^{13}\text{C}-\text{NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz)

δ_c : 160.1 (C-6), 155.0 (C-7), 146.9 (C-1), 137.1 (C-4a), 135.2 (C-3), 125.9 (C-8a), 124.7 (C-4), 107.8 (C-8), 106.5 (C-5), 57.5 (6-OCH₃), 57.1 (7-OCH₃), 48.0 (N-CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[23],故鉴定化合物 9 为 *N*-methyl-6,7-dimethoxyisoquinoline。

4 抗乙酰胆碱酯酶活性筛选

采用 Ellman 改良法^[24]对分离得到的 9 个化合物进行 AChE 抑制活性评价,以石杉碱甲作为阳性对照。具体实验步骤:在 96 孔酶标板中依次加入 20 μ L 待测样品溶液、140 μ L PBS 缓冲液(0.1 mol·L⁻¹, pH 8.0)及 20 μ L 乙酰胆碱酯酶溶液,充分混匀后于 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育 10 min。实验设置以下对照组:样品本底对照组(不含酶溶液)、空白对照组(不含样品溶液)、空白本底对照组(不含样品溶液和酶溶液)。孵育结束后,每孔分别加入 10 μ L DTNB (2 mmol·L⁻¹) 和 10 μ L ATCI (15 mmol·L⁻¹),继续于 37 $^{\circ}$ C 反应 10 min 后,使用酶标仪在 412 nm 波长处测定吸光度。

对于初筛浓度(1 mmol·L⁻¹)下表现出显著抑制活性的样品,采用梯度稀释法进一步测定其半数抑制浓度(IC₅₀)。具体通过检测 7 个不同浓度梯度下样品对 AChE 的抑制率,将浓度-抑制率数据导入 IC₅₀ 计算软件(GraphPad Prism 8.0),采用非线性回

归分析获得 IC₅₀,所有实验均独立重复 3 次。活性测试结果表明,化合物 4 表现出明显的 AChE 抑制活性,其 IC₅₀为(249.5 $\pm$ 1.52) μ mol·L⁻¹。

5 分子对接分析

为探究化合物 4 与 AChE 的相互作用机制,采用分子对接技术进行模拟分析。从 RCSB PDB 数据库(PDB ID: 7XF7)获取 AChE 的晶体结构,利用 PyMOL 软件去除水分子及无关配体,优化蛋白结构。使用 ChemDraw 3D 22.0 构建化合物 4 的三维结构,随后进行能量最小化优化并导出为“.mol2”格式文件,采用 AutoDock Vina 进行对接计算。对接前,在 AChE 活性口袋(坐标: $X = -4.830$, $Y = -13.039$, $Z = 17.012$)设置对接网格(尺寸: 40 $\text{\AA} \times 40 \text{\AA} \times 46 \text{\AA}$),其余参数保持默认。对接完成后,使用 PyMOL 可视化结合模式,并计算结合自由能。结果显示,化合物 4 与 AChE 的结合能为 -9.0 kcal·mol⁻¹,表明其具有较强的自发结合能力。进一步分析表明,化合物 4 通过与 AChE 活性位点的多个残基形成相互作用而稳定结合,包括与 TRP-82 的氢键作用、与 TYR-81 的 π -烷基作用、与 GLU-53 的静电吸引作用以及与 ASP-71 的 π -阴离子作用(图 5)。该计算结果与体外活性实验结果一致,提示化合物 4 可能通过直接抑制 AChE 发挥生物活性。

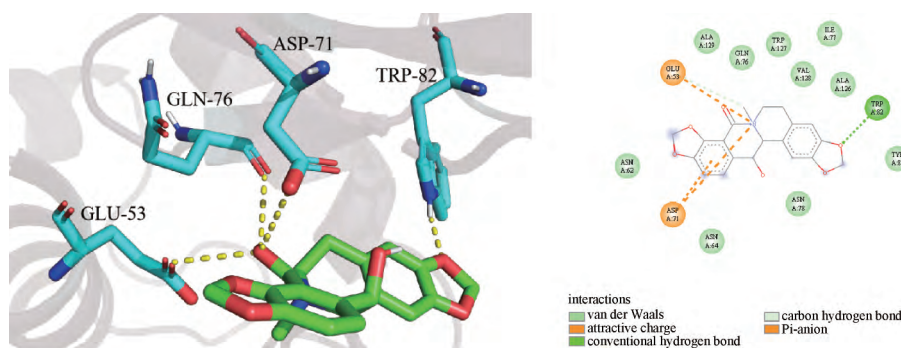


图 5 化合物 4 和乙酰胆碱酯酶的分子对接

Fig.5 Molecular docking of compound 4 with acetylcholinesterase

6 结果与讨论

本研究对采自云南的娇嫩黄堇进行了系统的化学成分研究,通过甲醇提取、溶剂分配及多种色谱分离技术,包括硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及半制备高效液相色谱等,成功分离得到 9 个化合物。运用 HR-ESI-MS、NMR、X-ray 单晶衍射等现

代波谱技术,鉴定了这些化合物的结构。研究结果显示,分离得到的化合物主要为异喹啉类生物碱,其中包括 2 个新化合物(1、2)和 7 个已知化合物(3~9)。这一发现与紫堇属植物富含异喹啉类生物碱的化学特征高度吻合。在已知化合物中,oxohydrazinone (6) 作为一种天然异喹啉生物碱,文献报道显

示其在抗菌^[25]和抗炎^[26]领域展现明确潜力; α -magnoflorine (7) 是一种广泛分布于植物界的阿朴非型异喹啉生物碱,其药理活性广泛,包括抗糖尿病、抗炎、抗肿瘤、神经保护、抗氧化、抗真菌及免疫调节等多种作用^[27]。这些活性化合物的分离鉴定为阐释娇嫩黄堇的传统药用价值提供了科学依据。特别值得关注的是,2 个新化合物(1、2)的发现,尤其与化合物 1 同类型的原小檗碱型异喹啉生物碱目前仅见 1 个化合物被报道^[13],其结构特点在于 C-8 与 C-14 之间形成了桥环。此外,结合化合物 4 的潜在 AChE 抑制活性及明确作用机制,本研究结果不仅丰富了紫堇属植物的化学多样性认识,也为紫堇属植物的现代化开发提供了双重依据,既验证了传统药用价值的化学基础,又发现了潜在的神经保护剂候选分子。鉴于紫堇属植物在传统医药中的重要地位,本研究结果对深入挖掘娇嫩黄堇的药用潜力具有重要指导意义。后续研究将重点关注这些化合物(特别是新化合物)的构效关系研究及体内药效评价,以期为新药研发提供先导化合物。

参考文献

- [1] 熊邵文. 娇嫩黄堇生物碱成分及脲酶抑制活性研究 [D]. 成都: 西南民族大学, 2022.
- [2] 邓超凡, 江志波, 马晓莉, 等. 紫堇属植物苜蓿基异喹啉类成分研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2024, 36(4): 694.
- [3] 桂正杰, 申凯, 黄明浩, 等. 不同产地紫堇属植物生物碱类成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(3): 410.
- [4] 金书屹, 李红婷, 汪万利, 等. 紫堇属岩黄连的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(5): 1545.
- [5] 朱一栋, 尚莹, 江志波, 等. 紫堇属植物非生物碱类成分及药理活性研究进展 [J/OL]. 天然产物研究与开发 [2025-07-17]. <https://link.cnki.net/urlid/51.1335.Q.20240911.2044.004>.
- [6] 陈松. 101 种药用植物组分库构建及夏天无抗血栓活性评价 [D]. 昆明: 云南大学, 2023.
- [7] CHANG S, YANG Z Y, HAN N, et al. The antithrombotic, anticoagulant activity and toxicity research of ambinine, an alkaloid from the tuber of *Corydalis ambigua* var. *amurensis* [J]. Regul Toxicol Pharm, 2018, 95: 175.
- [8] QIN F, CHEN Y, WANG F F, et al. *Corydalis saxicola* Bunting: a review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical applications [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2): 1626.
- [9] 周雨欣, 麦馨月, 杨宇轩, 等. 基于 VOSviewer 和 CiteSpace 的紫堇属药用植物研究文献可视化分析 [J]. 中国中医药图书情报杂志, 2025, 49(1): 130.
- [10] 王琪, 王顺善, 马吉元, 等. 塞北紫堇中生物碱成分及其药理作用的研究进展 [J]. 华西药理学杂志, 2019, 34(4): 421.
- [11] 南泽东, 韩广田, 李喜安, 等. 塞北紫堇化学成分及其对肝癌细胞的增殖抑制作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(15): 163.
- [12] 向艳, 胡乐诗, 王媛媛, 等. 夏天无生物碱类化学成分及其药理活性研究进展 [J]. 中成药, 2025, 47(1): 188.
- [13] 张建超. 夏天无注射液穴位注射治疗对脑卒中后遗症偏瘫患者治疗效果及生活质量的改善作用观察 [J]. 黑龙江医药科学, 2024, 47(2): 148.
- [14] 黄善敏, 郑雪花, 郑士瑞, 等. 夏天无调控成纤维细胞活性改善坐骨神经痛的研究 [J]. 江西中医药, 2023, 54(12): 67.
- [15] MANSKE R H F, RODRIGO R, HOLLAND H L, et al. Solidaline. A modified protoberberine alkaloid from *Corydalis solida* [J]. Can J Chem, 1978, 56: 383.
- [16] WANGCHUK P, KELLER P A, PYNE S G, et al. Phytochemical and biological activity studies of the Bhutanese medicinal plant *Corydalis crispa* [J]. Nat Prod Commun, 2012, 7(5): 575.
- [17] HUSSAIN S F, GUINAUDEAU H, SHAMMA M. Two spirobenzylisoquinoline alkaloids from *Corydalis stewartii* [J]. J Nat Prod, 1988, 51(6): 1136.
- [18] NASERI M, EMAMI S A, ASILI J, et al. Rupestrines A-D, alkaloids from the aerial parts of *Corydalis rupestris* [J]. Bioorg Chem, 2018, 77: 651.
- [19] 高燕萍, 吴强, 梁健, 等. 矮紫堇生物碱成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17): 67.
- [20] SU Y, LI S, LI N, et al. Seven alkaloids and their antibacterial activity from *Hypecoum erectum* L. [J]. J Med Plants Res, 2011, 5(22): 5428.
- [21] CHEN J H, DU Z Z, SHEN Y M, et al. Aporphine alkaloids from *Clematis parviloba* and their antifungal activity [J]. Arch Pharm Res, 2009, 32: 3.
- [22] LIN F W, WANG J J, WU T S. New pavine N-oxide alkaloids from the stem bark of *Cryptocarya chinensis* Hemsl [J]. Chem Pharm Bull, 2002, 50(2): 157.
- [23] WU J, BEAL J L, WU W N, et al. Alkaloids of *Thalictrum*. XXXII. Isolation and identification of alkaloids from *Thalictrum revolutum* DC. fruit [J]. J Nat Prod, 1980, 43(2): 270.
- [24] 施莹莹, 张涵硕, 马珊, 等. 北柴胡茎叶化学成分及其生物活性研究 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(3): 726.
- [25] 张瑞飞, 查色, 尹旭, 等. 藏药角茴香及同属植物的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(7): 1217.
- [26] KOSTOVA N, DONCHEVA T. *Hypecoum* spp.: chemistry and biological activity of alkaloids [J]. Diversity, 2023, 15: 1023.
- [27] 王英, 武晓, 刘凤娟, 等. 木兰花碱调控 CD44s/STAT3 通路对肺癌细胞迁移、侵袭及干性特征的影响实验研究 [J]. 陕西医学杂志, 2024, 53(11): 1449.

责任编辑 张宁宁