

荷叶中的生物碱及其对 5-HT_{2A} 和 5-HT_{2C} 受体的激动作用研究王 豪^{1,2}, 刘艳芳², 王 委³, 芮海云¹, 董好岩^{1*}¹泰州学院江苏省手性医药化学品生物制造重点实验室; ²泰州新药创制服务中心, 泰州 225300;³中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023

摘要:对荷叶中的生物碱进行了分离、鉴定和调脂减肥活性研究。本研究结合传统酸提碱沉法与现代高效液相色谱制备技术,从荷叶中分离、纯化到 11 个生物碱,分别被鉴定为 *N*-氧基原荷叶碱(1)、原荷叶碱(2)、莲碱(3)、降氧化北美黄连次碱(4)、萆芩宁(5)、巴婆碱(6)、*O*-去甲基荷叶碱(7)、*N*-去甲基荷叶碱(8)、荷叶碱(9)、衢州乌药碱(10)和亚美罂粟碱(11),其中,化合物 1、4 和 5 为首次从荷叶中分得。测试所得化合物对 5-HT_{2A} 和 5-HT_{2C} 受体的激动作用,结果表明 11 个生物碱对 5-HT_{2A} 受体均具有一定的激动作用,进一步揭示了荷叶调脂减肥的可能药效基础和作用机理。

关键词:荷叶;生物碱;5-羟色胺受体;调脂;减肥

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)4-0656-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.4.1013

Alkaloids from leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. and their agonistic activities on 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors

WANG Hao^{1,2}, LIU Yan-fang², WANG Wei³, RUI Hai-yun¹, DONG Hao-yan^{1*}¹Jiangsu Key Laboratory of Chiral Pharmaceuticals Biosynthesis, Taizhou University;²Center for Novel Drug Development of Taizhou, Taizhou 225300, China;³Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China

Abstract: The alkaloids in leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. were isolated, identified and evaluated for their lipid-regulating activities on receptors 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} in this study. Eleven alkaloids were isolated and purified from lotus leaves by combining the traditional acid extraction and alkali precipitation method with modern high-performance liquid chromatography techniques, and were identified as pronuciferine *N*-oxide (1), pronuciferine (2), roemerine (3), noroxyhydrastinine (4), piperlonguminine (5), asimilobine (6), *O*-normuciferine (7), *N*-normuciferine (8), nuciferine (9), coclaurine (10) and armapavine (11), respectively. Among them, compounds 1, 4 and 5 were obtained from the title plant for the first time. It is revealed that all alkaloids possessed interesting agonistic activities on 5-HT_{2A} receptor by an MTT assay on HEK 293 cell lines, which implied the potential chemical substance and pharmacological mechanism of the lipid-regulating activities of lotus leaves.

Key words: leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn.; alkaloid; 5-HT receptor; lipid-regulating activity; weight loss

肥胖是由营养摄入过剩和遗传等多种因素引起的慢性代谢紊乱性疾病,不仅影响患者的生活质量,还会引起高血压、高脂血症和冠心病等诸多心脑血管疾病,严重威胁着人类健康^[1-3]。从药食同源药材中发掘具有调脂减肥功能的天然活性成分,进而开发具有调脂减肥活性的药品或保健品,是应对肥胖

这一人类面临公共健康问题的一个重要途径^[3,4]。

荷叶,又名莲叶,为睡莲科莲属植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的新鲜或干燥叶片,药食同源,具有散瘀止血、清暑化湿等功效,主要用于治疗脾虚泄泻、便血崩漏、暑热烦渴等症,历代本草皆有收录^[5]。市售通脉降脂片、降脂宁颗粒、荷丹颗粒、护肝清脂颗粒、糖脂清等调脂减肥中成药中均含有荷叶组分^[4]。现代药理学研究表明荷叶富含生物碱和黄酮类化合物,具有调脂、降压、抗炎、抗氧化、抗

病毒等诸多药理活性^[4-7]。然而, 尽管常被用诸中药减肥、保健复方, 荷叶生物碱中具体的调脂减肥成分并不十分明确。

为了进一步阐明荷叶调脂减肥活性的药效物质基础, 本研究在 LC-MS 跟踪指导下, 采用传统酸提碱沉与现代高效液相色谱制备相结合的方法对荷叶中的生物碱进行了系统分离, 并测试了分离的生物碱成分对 5-HT_{2A} 和 5-HT_{2C} 受体的激动作用, 以期为基于荷叶的调脂减肥活性开发相关创新药物和保健品提供更多的理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

安捷伦 1290-6530 LC-QTOF 液质联用仪 (Agilent 公司, 美国); Avance III-600 型超导核磁共振仪 (Bruker 公司, 德国); Waters E2695 分析型高效液相色谱仪 (Waters 公司, 美国); Newstyle™ 制备/半制备型高效液相色谱仪 (汉邦科技有限公司, 中国); FlexStation 3 台式多功能酶标仪 (Molecular Devices, 美国); 分析纯级阳性对照药 5-羟色胺盐酸盐 (CAS: 153-98-0, 上海晶纯生化科技股份有限公司); C₁₈ HCE、C₁₈ YE 等色谱填料 (华谱科仪 (北京) 科技有限公司); 其它实验中所用试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 材料

实验用干燥荷叶样品 2 kg 采购自河北安国中药材交易市场, 由河南农业大学李家美研究员鉴定为荷叶 *Nelumbo nucifera* Gaertn., 标本 (20201012) 存放于江苏省手性医药化学品生物制造重点实验室。

1.3 提取与分离

干燥荷叶 2 kg 粉碎, 用 15 L 含有 1% 盐酸的 30% 乙醇溶液浸提 2 次, 每次 24 h, 总提取液合并后减压浓缩至无醇, 用 500 nm 陶瓷膜过滤得澄清液,

澄清液在制备型高效液相色谱仪上用 C₁₈ YE 填料吸附, 水洗至流出液 pH 值呈中性, 再用 60% 乙醇洗脱得到荷叶总生物碱提取液。

荷叶总生物碱提取液 HPLC 分析 (C₁₈ HCE 色谱柱: 4.6 mm × 250 mm, 5 μm; 流动相为乙腈: 0.1% 乙酸铵溶液 = 15: 85 → 40: 60, 0.8 mL/min 梯度洗脱; 检测波长为 254 nm 和 280 nm) 结果如图 1 所示。放大分析条件, 将荷叶总生物碱提取液在制备型高效液相色谱仪 (装填 3.0 kg 10 μm C₁₈ HCE 填料的 100 mm 轴向压缩柱, 流速 360 mL/min) 分离, 按图 1 所示吸收峰切段, 得到流分 Fr. 1 ~ Fr. 7。经 LC-MS 分析和碘化铊钾显色检测, 生物碱分布在 Fr. 1 ~ Fr. 3, 其余流分不含生物碱成分。因而, 在 LC-MS 检测和分析型 HPLC 的指导下, 将 Fr. 1 经制备型液相色谱 (50 mm 轴向压缩柱, 填料为 300 g 粒径为 10 μm 的 C₁₈ 反相硅胶, 流动相为乙腈: 0.1% 乙酸铵溶液 = 5: 95 → 10: 90, 流速 80 mL/min) 进行分离, 得到含有化合物 1 的亚流分 Fr. 1-1、含有化合物 5 和 6 的亚流分 Fr. 1-2, 以及含有化合物 10 和 11 的 Fr. 1-3。其中, Fr. 1-1 再经半制备型液相色谱 (20 mm × 254 mm 色谱柱, 5 μm C₁₈ YE, 甲醇: 0.1% 乙酸铵溶液 = 8: 92, 12 mL/min) 纯化, 得到化合物 1 (12 mg, t_R = 7 min); Fr. 1-2 经上述色谱方法纯化, 得到化合物 5 (9 mg, t_R = 19 min) 和 6 (58 mg, t_R = 23 min); Fr. 1-3 经半制备型液相色谱 (5 μm C₁₈, 甲醇: 乙腈: 0.1% 乙酸铵溶液 = 10: 5: 85, 12 mL/min) 纯化, 得到化合物 10 (36 mg, t_R = 16 min) 和 11 (18 mg, t_R = 8 min)。Fr. 2 经制备型液相色谱 (10 μm C₁₈, 乙腈: 0.1% 乙酸铵溶液 = 15: 85, 80 mL/min) 分离, 得到纯度为 69% 的化合物 4 和纯度为 85% 的化合物 7, 再经 HPLC 进一步纯化, 分别得到纯度大于 99% 的化合物 4 (7 mg, t_R = 15 min) 和化

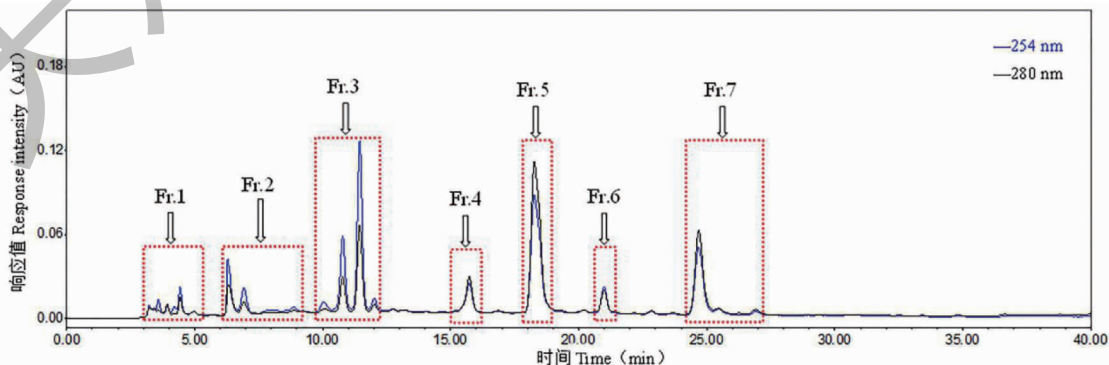


图 1 荷叶总生物碱提取液的 HPLC 分析

Fig. 1 HPLC analysis on alkaloids extract from *N. nucifera*

合物 **7** (109 mg, $t_R = 18$ min); Fr. 3 经制备型液相色谱 (色谱条件同 Fr. 2) 进行分离, 得到 Fr. 3-1 和 Fr. 3-2, Fr. 3-1 再经半制备型液相色谱 (10 μm C₁₈ YE, 甲醇: 0.1% 乙酸铵溶液 = 25: 75, 10 mL/min) 纯化, 得到化合物 **2** (31 mg, $t_R = 15$ min) 和 **3** (19 mg, $t_R = 17$ min); Fr. 3-2 再经半制备型液相色谱 (10 μm C₁₈ HCE, 甲醇: 乙腈: 0.1% 乙酸铵溶液 = 15: 15: 70, 12 mL/min) 纯化, 得到化合物 **8** (120 mg, $t_R = 16$ min) 和 **9** (83 mg, $t_R = 19$ min)。所得化合物经 HPLC 分析, 纯度均大于 98%。

1.4 对 5-羟色胺受体的激动活性测试

在稳转的 HEK293 细胞模型上, 通过钙流检测法测试了所得荷叶生物碱对 5-HT_{2A} 和 5-HT_{2C} 受体的激动活性^[3,6]。HEK293 细胞在添加 10% 胎牛血清的杜氏改良培养基中培养, 稳转, 取适量稳转细胞接种于黑色 96 孔板, 细胞密度约为 5×10^4 个/孔, 在 CO₂ 培养箱中 (CO₂ 含量为 5%) 培养 24 h, 然后在 37 °C 下用 HDB 免洗 Fluo-8 钙试剂盒在黑暗中染色 1 h, 接下来用被测样品和阳性药物分别处理并设置空白对照, 最后在室温下用 Flex-Station 3 台式多模式微孔板阅读器读取吸收值。设定阳性对照 (5-羟色胺盐酸盐) 的激动率为 100%, 供试化合物对 5-HT 受体的激动率以阳性对照的百分比计算^[8]。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 328.1562 [M + H]⁺ (calcd for C₁₉H₂₂NO₄, 328.1543); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.91 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-12), 6.87 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-8), 6.65 (1H, s, H-3), 6.31 (1H, dd, $J = 9.6, 1.9$ Hz, H-9), 6.24 (1H, dd, $J = 9.3, 1.9$ Hz, H-11), 4.98 ~ 5.02 (1H, m, H-6a), 4.01 ~ 4.05 (1H, m, H-5 α), 3.83 (3H, s, -OCH₃), 3.72 ~ 3.77 (1H, m, H-5 β), 3.65 (3H, s, -OCH₃), 3.45 ~ 3.49 (1H, m, H-4 α), 3.40 (3H, s, -NCH₃), 2.90 ~ 2.94 (2H, m, H-4 β , H-7 α), 2.28 ~ 2.32 (1H, m, H-7 β); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 144.9 (s, C-1), 154.2 (s, C-2), 111.7 (d, C-3), 24.2 (t, C-4), 65.3 (t, C-5), 39.3 (t, C-7), 151.5 (d, C-8), 128.5 (d, C-9), 185.3 (s, C-10), 127.8 (d, C-11), 148.6 (d, C-12), 50.5 (s, C-13), 125.3 (s, C-3a), 126.8 (s, C-3b), 74.1 (d, C-6a), 133.3 (s, C-13a), 61.0 (q, -OCH₃), 56.4 (q, -OCH₃), 56.3 (q, -NCH₃)。以上数据与文献^[9]报道一致, 故被鉴定为

N-氧基原荷叶碱。

化合物 2 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 312.1577 [M + H]⁺ (calcd for C₁₉H₂₂NO₃, 312.1594); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.96 (1H, dd, $J = 9.2$ Hz, H-12), 6.86 (1H, dd, $J = 9.2$ Hz, H-8), 6.56 (1H, s, H-3), 6.35 (1H, dd, $J = 9.2, 1.9$ Hz, H-9), 6.21 (1H, dd, $J = 9.2, 1.9$ Hz, H-11), 3.86 (3H, s, -OCH₃), 3.61 (3H, s, -OCH₃), 3.53 (1H, dd, $J = 10.6, 6.3$ Hz, H-6a), 3.20 ~ 3.25 (1H, m, H-5 α), 2.95 ~ 2.99 (1H, m, H-4 α), 2.80 ~ 2.84 (1H, m, H-4 β), 2.54 ~ 2.58 (1H, m, H-5 β), 2.49 (3H, s, -NCH₃), 2.44 (1H, dd, $J = 11.6, 6.3$ Hz, H-7 α), 2.32 (1H, dd, $J = 11.6, 10.6$ Hz, H-7 β); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 144.7 (s, C-1), 153.8 (s, C-2), 112.0 (d, C-3), 27.5 (t, C-4), 55.0 (t, C-5), 47.3 (t, C-7), 153.2 (d, C-8), 128.5 (d, C-9), 186.3 (s, C-10), 127.6 (d, C-11), 149.8 (d, C-12), 51.5 (s, C-13), 128.3 (s, C-3a), 133.8 (s, C-3b), 65.8 (d, C-6a), 132.9 (s, C-13a), 61.1 (q, -OCH₃), 56.5 (q, -OCH₃), 43.3 (q, -NCH₃)。以上数据与文献^[9]报道一致, 故被鉴定为原荷叶碱。

化合物 3 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 280.1320 [M + H]⁺ (calcd for C₁₈H₁₈NO₂, 282.1338); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.19 ~ 7.25 (4H, m, H-8, H-9, H-10, H-11), 6.54 (1H, s, H-3), 5.72 (2H, s, -OCH₂O-), 3.74 ~ 3.76 (1H, m, H-6a), 3.21 ~ 3.27 (2H, m, H-5), 3.12 ~ 3.15 (1H, m, H-4 α), 2.67 ~ 2.72 (2H, m, H-4 β , H-7 α), 2.63 (3H, s, -NCH₃), 2.57 ~ 2.62 (1H, m, H-7 β); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 146.9 (s, C-1), 142.8 (s, C-2), 107.6 (d, C-3), 28.8 (t, C-4), 53.6 (t, C-5), 34.7 (t, C-7), 127.8 (d, C-8), 127.0 (d, C-9), 127.1 (d, C-10), 128.1 (d, C-11), 116.7 (s, C-1a), 126.5 (s, C-1b), 126.9 (s, C-3a), 62.2 (d, C-6a), 135.6 (s, C-7a), 131.2 (s, C-11a), 102.7 (t, -OCH₂O-), 42.5 (q, -NCH₃)。以上数据与文献^[10]报道一致, 故被鉴定为莲碱。

化合物 4 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 192.0645 [M + H]⁺ (calcd for C₁₀H₁₀NO₃, 192.0628); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.51 (1H, s, H-8), 6.65 (1H, s, H-5), 6.09 (1H, br s, -NH), 5.99 (2H, s, -OCH₂O-), 3.52 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-3), 2.90 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-4); ¹³C NMR (150 MHz,

CD₃OD)δ: 165.9 (s, C-1), 40.2 (t, C-3), 28.5 (t, C-4), 107.1 (d, C-5), 150.7 (s, C-6), 146.7 (s, C-7), 108.1 (d, C-8), 123.0 (s, C-4a), 134.5 (s, C-8a), 101.5 (t, -OCH₂O-). 以上数据与文献^[11]报道一致, 故被鉴定为降氧化北美黄连次碱。

化合物 5 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 274. 149 1 [M + H]⁺ (calcd for C₁₆H₂₀NO₃, 274. 143 5); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD)δ: 7.27 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2), 7.16 (1H, dd, J = 15.0, 10.2 Hz, H-9), 7.01 (1H, dd, J = 8.1, 1.5 Hz, H-6), 6.83 ~ 6.96 (3H, m, H-5, H-7, H-8), 6.11 (1H, d, J = 15.0 Hz, H-10), 6.06 (2H, s, -OCH₂O-), 2.97 ~ 2.99 (2H, m, H-1'), 1.71 ~ 1.74 (1H, m, H-2'), 0.86 (6H, d, J = 6.7 Hz, H-3', H-4'); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD)δ: 131.5 (s, C-1), 106.2 (d, C-2), 148.5 (s, C-3), 148.2 (s, C-4), 109.0 (d, C-5), 123.2 (d, C-6), 138.3 (d, C-7), 125.9 (d, C-8), 139.7 (d, C-9), 125.3 (d, C-10), 165.7 (s, C-11), 46.8 (t, C-1'), 28.7 (d, C-2'), 20.7 (q, C-3', C-4'), 101.8 (t, -OCH₂O-). 以上数据与文献^[12]报道一致, 故被鉴定为萆菱宁。

化合物 6 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 268. 133 1 [M + H]⁺ (calcd for C₁₇H₁₈NO₂, 268. 133 2); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD)δ: 7.25 ~ 7.31 (4H, m, H-8, H-9, H-10, H-11), 6.70 (1H, s, H-3), 4.18 (1H, dd, J = 4.5, 3.8 Hz, H-6a), 3.57 (3H, s, -OCH₃), 3.30 ~ 3.33 (2H, m, H-5), 3.25 ~ 3.27 (1H, m, H-4α), 3.11 ~ 3.19 (1H, m, H-4β), 3.04 (1H, dd, J = 13.4, 4.5 Hz, H-7α), 2.91 (1H, dd, J = 13.4, 3.8 Hz, H-7β); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD)δ: 152.6 (s, C-1), 146.3 (s, C-2), 116.8 (d, C-3), 26.5 (t, C-4), 42.9 (t, C-5), 35.4 (t, C-7), 129.3 (d, C-8), 129.2 (d, C-9), 129.1 (d, C-10), 127.8 (d, C-11), 122.6 (s, C-1a), 129.4 (s, C-1b), 128.2 (s, C-3a), 54.6 (d, C-6a), 134.7 (s, C-7a), 133.0 (s, C-11a), 60.7 (q, -OCH₃). 以上数据与文献^[13]报道一致, 故被鉴定为巴婆碱。

化合物 7 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 282. 148 5 [M + H]⁺ (calcd for C₁₈H₂₀NO₂, 282. 148 9); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD)δ: 7.23 ~ 7.32 (4H, m, H-8, H-9, H-10, H-11), 6.68 (1H, s, H-3), 3.74 ~ 3.76 (1H, m, H-6a), 3.63 (3H, s, -OCH₃), 3.28 ~ 3.31 (2H, m, H-5), 3.19 ~ 3.25 (1H, m, H-4α), 2.74 ~

2.84 (2H, m, H-4β, H-7α), 2.76 (3H, s, -NCH₃), 2.68 ~ 2.70 (1H, m, H-7β); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD)δ: 151.9 (s, C-1), 146.1 (s, C-2), 116.7 (d, C-3), 28.8 (t, C-4), 54.5 (t, C-5), 35.1 (t, C-7), 129.5 (d, C-8), 129.3 (d, C-9), 129.1 (d, C-10), 128.3 (d, C-11), 125.9 (s, C-1a), 129.6 (s, C-1b), 128.9 (s, C-3a), 64.1 (d, C-6a), 136.7 (s, C-7a), 133.5 (s, C-11a), 60.9 (q, -OCH₃), 43.4 (q, -NCH₃). 以上数据与文献^[14]报道一致, 故被鉴定为 *O*-去甲基荷叶碱。

化合物 8 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 282. 147 3 [M + H]⁺ (calcd for C₁₈H₂₀NO₂, 282. 148 9); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD)δ: 7.26 ~ 7.32 (4H, m, H-8, H-9, H-10, H-11), 6.86 (1H, s, H-3), 4.13 (1H, dd, J = 4.3, 3.5 Hz, H-6a), 3.90 (3H, s, -OCH₃), 3.66 (3H, s, -OCH₃), 3.58 ~ 3.63 (1H, m, H-4α), 3.16 ~ 3.25 (2H, m, H-5), 2.99 ~ 3.03 (1H, m, H-4β), 2.96 (1H, dd, J = 13.8, 4.3 Hz, H-7α), 2.85 (1H, dd, J = 13.8, 3.5 Hz, H-7β); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD)δ: 154.6 (s, C-1), 147.0 (s, C-2), 113.0 (d, C-3), 27.0 (t, C-4), 42.7 (t, C-5), 35.6 (t, C-7), 129.0 (d, C-8), 128.5 (d, C-9), 128.0 (d, C-10), 127.6 (d, C-11), 124.5 (s, C-1a), 129.3 (s, C-1b), 128.1 (s, C-3a), 54.2 (d, C-6a), 135.0 (s, C-7a), 132.7 (s, C-11a), 60.4 (q, -OCH₃), 56.3 (q, -OCH₃). 以上数据与文献^[14]报道一致, 故被鉴定为 *N*-去甲基荷叶碱。

化合物 9 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 296. 164 2 [M + H]⁺ (calcd for C₁₉H₂₂NO₂, 296. 164 5); ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD)δ: 7.25 ~ 7.32 (4H, m, H-8, H-9, H-10, H-11), 6.82 (1H, s, H-3), 3.88 (3H, s, -OCH₃), 3.63 (3H, s, -OCH₃), 3.52 ~ 3.55 (1H, m, H-6a), 3.35 ~ 3.38 (1H, m, H-4α), 3.18 ~ 3.28 (2H, m, H-5), 2.90 ~ 2.98 (m, 1H, H-7α), 2.85 ~ 2.87 (1H, m, H-4β), 2.80 (3H, s, -NCH₃), 2.69 ~ 2.72 (1H, m, H-7β); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD)δ: 154.0 (s, C-1), 146.6 (s, C-2), 112.5 (d, C-3), 28.1 (t, C-4), 53.8 (t, C-5), 34.4 (t, C-7), 129.0 (d, C-8), 128.7 (d, C-9), 128.5 (d, C-10), 127.9 (d, C-11), 125.7 (s, C-1a), 129.2 (s, C-1b), 128.1 (s, C-3a), 63.4 (d, C-6a), 135.9 (s, C-7a), 132.7 (s, C-11a), 60.5 (q, -OCH₃), 56.3 (q, -OCH₃), 42.5 (q, -NCH₃). 以上数据与文献^[15]报道一致, 故被鉴定

为荷叶碱。

化合物 10 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z 286.1471 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{17}H_{20}NO_3$, 286.1438); 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.12 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-10, H-14), 6.81 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-11, H-13), 6.64 (1H, s, H-8), 6.45 (1H, s, H-5), 4.56 ~ 4.60 (1H, m, H-1), 3.68 (3H, s, -OCH₃), 3.46 ~ 3.54 (1H, m, H-3 α), 3.28 ~ 3.31 (2H, m, H-4), 3.06 ~ 3.08 (1H, m, H-3 β), 2.93 ~ 3.00 (2H, m, H-15); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 57.7 (d, C-1), 40.6 (t, C-3), 25.8 (t, C-4), 116.2 (d, C-5), 147.9 (s, C-6), 147.8 (s, C-7), 111.2 (d, C-8), 127.4 (s, C-9), 131.9 (d, C-10, C-14), 116.9 (d, C-11, C-13), 158.2 (s, C-12), 40.1 (t, C-15), 123.6 (s, C-4a), 125.0 (s, C-8a), 56.3 (q, -OCH₃)。以上数据与文献^[16]报道一致,故被鉴定为衡州乌药碱。

化合物 11 白色粉末; HR-ESI-MS: m/z

314.1772 $[M+H]^+$ (calcd for $C_{19}H_{24}NO_3$, 314.1751); 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.18 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-10, H-14), 6.95 (2H, d, $J = 8.3$ Hz, H-11, H-13), 6.90 (1H, s, H-8), 6.85 (1H, s, H-5), 4.28 (1H, dd, $J = 9.5, 4.6$ Hz, H-1), 3.89 (3H, s, -OCH₃), 3.80 (3H, s, -OCH₃), 3.52 ~ 3.61 (1H, m, H-3 α), 3.20 ~ 3.26 (2H, m, H-4), 3.05 ~ 3.08 (3H, m, H-3 β , H-15), 2.84 (3H, s, -NCH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 66.0 (d, C-1), 38.5 (t, C-3), 25.8 (t, C-4), 117.0 (d, C-5), 150.3 (s, C-6), 148.3 (s, C-7), 112.7 (d, C-8), 131.4 (s, C-9), 132.2 (d, C-10, C-14), 116.5 (d, C-11, C-13), 157.9 (s, C-12), 46.5 (t, C-15), 124.0 (s, C-4a), 125.1 (s, C-8a), 56.4 (q, -OCH₃), 55.9 (q, -OCH₃), 41.0 (q, -NCH₃)。以上数据与文献^[10]报道一致,故被鉴定为亚美罂粟碱。

化合物 1~11 的结构见图 2。

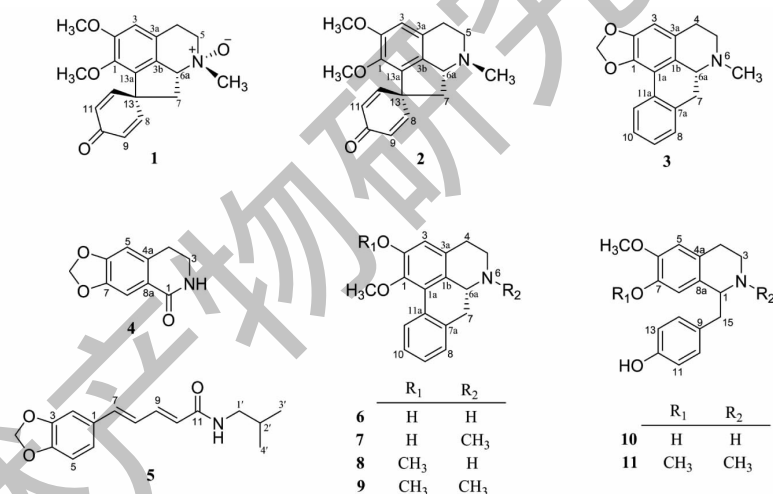


图 2 化合物 1~11 的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of compounds 1-11

2.2 对 5-HT 受体的激动作用

通过钙流检测法在 HEK293 细胞模型上测试了荷叶生物碱对 5-HT_{2A} 和 5-HT_{2C} 受体的激动作用^[3,8],结果如表 1 所示,所得 11 个荷叶生物碱在测试浓度下均对 5-HT_{2A} 受体具有激动作用,其中,化合物 9 在 0.99 mmol/L 浓度时对 5-HT_{2A} 受体的激动率为 136.09%,化合物 2 在 1.01 mmol/L 浓度时对 5-HT_{2A} 受体的激动率为 109.27%;7 个化合物对 5-HT_{2C} 受体具有一定的激动作用,其中,化合物 1 在

0.99 mmol/L 浓度时对 5-HT_{2C} 受体的激动率为 63.29%。

3 讨论与结论

肥胖是动脉粥样硬化、冠心病、高胆固醇血症等心脑血管疾病以及糖尿病等代谢性疾病的主要诱因之一,调脂减肥有助于上述疾病的预防和辅助治疗^[14]。5-羟色胺是哺乳动物体内广泛分布的一种神经递质,通过激动或拮抗其相应受体功能而调节神经元的兴奋性,进而调控不同行为状态下的感觉

表 1 荷叶生物碱对 5-HT_{2A} 受体和 5-HT_{2C} 受体的激动作用Table 1 Agonistic activities of alkaloids isolated from *N. nucifera* on receptors 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C}

样品 Sample	浓度 Concentration	激动率 Agonistic activity (%)	
		5-HT _{2A}	5-HT _{2C}
生物碱提取物 Alkaloids extract	332 μg/mL	82.61	38.94
1	0.99 mmol/L	78.40	63.29
2	1.01 mmol/L	109.27	32.38
3	1.01 mmol/L	96.91	ND
4	1.00 mmol/L	47.63	17.39
5	0.98 mmol/L	29.25	23.80
6	0.99 mmol/L	67.48	ND
7	1.01 mmol/L	81.52	18.46
8	1.00 mmol/L	78.07	33.23
9	0.99 mmol/L	136.09	43.90
10	0.97 mmol/L	40.26	ND
11	1.00 mmol/L	49.37	ND

注:激动率为两次独立试验的平均值;ND:没有检测到活性。

Note: Agonistic rate was the average of two independent tests. ND: No agonistic activity was detected.

和运动模式,与人体饮食、睡眠、情绪调控等诸多功能密切相关。有研究表明,在一定范围内 5-羟色胺受体家族中的 5-HT_{2A}、5-HT_{2C} 等受体的活性越高,人越易产生饱腹感和厌食感,从而导致食欲降低、摄食减少^[2,4];Munusamy 等^[6] 研究认为荷叶中的荷叶碱和莲碱可能通过活化 5-HT_{2A} 受体而达到节食效果。

为进一步阐明荷叶调脂减肥活性的物质基础,本研究采用传统酸提碱沉与现代高效液相色谱制备技术相结合的方法对荷叶中的生物碱进行了分离,共得到 11 个生物碱类化合物,其中,化合物 1、4 和 5 为首次从荷叶中得到。活性测试结果表明所得化合物均对 5-HT_{2A} 受体具有一定的激动作用,与 Munusamy 等^[6] 的研究结果一致,进一步揭示了荷叶生物碱可能具有活化 5-HT_{2A} 受体而实现节食、调脂、减肥的功效。此外,原阿吡啡类生物碱(1、2)和阿吡啡类生物碱(3、6~9)对 5-HT_{2A} 受体的激动作用相当,活性强于其他类型生物碱,具体的构效关系有待进一步研究。

综上,本研究丰富了荷叶生物碱的化学信息,进一步揭示了荷叶调脂减肥的可能药效基础和作用机制,为基于荷叶的调脂减肥活性开发相关创新药物和保健品提供了更多的理论依据。

参考文献

1 Sun J, Zhou WH, Gu TW, et al. A retrospective study on as-

sociation between obesity and cardiovascular risk diseases with aging in Chinese adults [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 5806-5813.

2 Hurt RT, Varayil JE, Ebbert JO. New pharmacological treatments for the management of obesity [J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2014, 16: 394.

3 Wang H, Liang JL, He QM, et al. Flavonoids, phenylethanoids and phenylpropanoids from *Rhodiola rosea* L. and their lipid-lowering activities on receptor 5-HT_{2A} [J]. *Med Res*, 2020, 4: e200018.

4 Cheng TT, Yuan XB, Hui XH, et al. Research progress on chemical constituents and lipid-lowering mechanism of alkaloids in *Nelumbinis Folium* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2019, 50: 1998-2003.

5 Ling ZH, Xiao B, Yue QY, et al. Isolation and identification of flavonoids from lotus leaf and effects of drying methods on the content of flavonoids and nuciferine [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2020, 32: 1730-1736.

6 Munusamy V, Yap BK, Buckle MJC, et al. Structure-based identification of aporphines with selective 5-HT(2A) receptor-binding activity [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2013, 81: 250-256.

7 Song YR, Han AR, Lim TG, et al. Isolation, purification, and characterization of novel polysaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaves and their immunostimulatory effects [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 128: 546-555.

(下转第 721 页)