

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201711019

引文格式: 秦舒琴, 李海云, 宋静茹, 等. 氯化两面针碱的提取分离、全合成及药理活性的研究进展 [J]. 广西植物, 2018, 38(9): 1248–1260

QIN SQ, LI HY, SONG JR, et al. Research progress on extraction, separation, total synthesis and pharmacological activity of nitidine chloride [J]. *Guihaia*, 2018, 38(9): 1248–1260

氯化两面针碱的提取分离、全合成及药理活性的研究进展

秦舒琴^{1,2}, 李海云¹, 宋静茹^{2*}, 李典鹏²

(1. 桂林理工大学 化学与生物工程学院, 广西 桂林 541006; 2. 广西植物功能物质研究与利用

重点实验室, 广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006)

摘要: 两面针是我国民间常用的传统中药之一, 从根部提取分离到的氯化两面针碱是两面针植物多种生物活性的主要有效成分。当前, 直接从植物中提取分离有效成分的方法不仅回收率低、成本高, 而且氯化两面针碱存在水溶性差和生物利用度低的问题, 因此大多学者致力于改造其结构以提高活性和利用度, 同时探索高效经济的全合成方法以满足研究和生产的需求。该文以国内外相关文献为基础, 对氯化两面针碱的提取、分离纯化、结构化合物的全合成路线以及药理活性机制的研究进展做一综述, 总结目前研究中存在的不足, 并对今后的研究重点做出展望, 旨在为今后深入研究两面针碱及衍生物活性改造、解析作用机制、开发基于此结构的创新药物分子等提供理论依据。

关键词: 氯化两面针碱, 提取, 全合成, 药理活性

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)09-1248-13

Research progress on extraction, separation, total synthesis and pharmacological activity of nitidine chloride

QIN Shuqin^{1,2}, LI Haiyun¹, SONG Jingru^{2*}, LI Dianpeng²

(1. College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: *Zanthoxylum nitidum*, locally called ‘liangmianzhen’, is one of the traditional Chinese medicines. Nitidine chloride isolated from the root of *Z. nitidum* is the main active constituent of its biological activities. Nowadays, chemists commit themselves to modifying the structure of nitidine, exploring efficient and versatile total synthetic routes to the analogues and evaluating structure-activity relationship. In this review, we summarized the enormous efforts for separation to enhance extraction efficiency, numerous total synthetic methods according to the reaction types and various pharmacological activities of nitidine chloride on the basis of related literatures from home and abroad. Besides, the review also dis-

收稿日期: 2018-03-06

基金项目: 国家自然科学基金(21602038); 广西植物研究所基本业务费项目(桂植业 16002); 广西壮族自治区八桂学者专项项目; 广西植物功能物质研究与利用重点实验室主任基金(ZRJ2016-2) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (21602038); Fundamental Research Fund of Guangxi Institute of Botany (16002); Bagui Scholar Program of the Guangxi Institute of Botany; Director Capital Program of Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization(ZRJ2016-2)]。

作者简介: 秦舒琴(1993-), 女, 广西桂林人, 硕士研究生, 主要从事天然产物合成与修饰研究, (E-mail) 1029268595@qq.com。

*通信作者: 宋静茹, 博士, 助理研究员, 主要从事天然产物修饰及有机功能材料研究, (E-mail) songjingru@iccas.ac.cn。

cussed the deficiencies of current researches and prospected the further research priority. We hope that this review can provide a theoretical basis for the following study of structural modification, of the concise synthetic route using readily available and inexpensive reagents, of the bioactive mechanism, and of exploiting new chemotherapy drugs.

Key words: nitidine chloride, extraction, total synthesis, pharmacological activity

两面针 (*Zanthoxylum nitidum*) 又名入地金牛、蔓椒、双面针等, 为芸香科花椒属藤本植物, 是我国民间常用的传统中药材之一, 具有抗炎、抗真菌、抗氧化、抗 HIV 和抗肿瘤等多种生物活性 (Arthur et al, 1959; Hu et al, 2006; Wang et al, 2015; Cesari et al, 2015)。在我国主要分布于华南地区, 其中以广西的资源最为丰富, 为两面针的道地药材产区。

氯化两面针碱 (nitidine chloride) 主要从两面针植物的根部分离得到, 是最主要的生物活性成分, 以其作为模型的抗癌、抗炎化合物的研究开发受到许多药物化学家的重视 (Bai et al, 2006; Kang et al, 2014; Pan et al, 2013)。关于两面针碱的提取分离手段, 全合成方法以及多种药理活性与机制的研究已经全方位展开 (Liu et al, 2012; Zhao et al, 2017)。现对此研究进展进行综述, 并指出研究中存在的不足和进一步的研究重点, 为两面针植物资源的开发与利用提供理论参考。

1 氯化两面针碱的理化性质与化学结构

氯化两面针碱的分子式为 $C_{21}H_{18}ClNO_4$, 熔点为 275~276 °C, 淡黄色针状晶体, 可溶解于甲醇、乙醇, 微溶于水, 结构式见图 1。

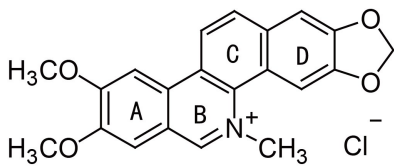


图 1 氯化两面针碱
Fig. 1 Nitidine chloride

2 氯化两面针碱的提取

由于氯化两面针碱属于苯并吡啶生物碱, 所以用于提取生物碱的方法同样适用于氯化两面针

碱, 主要有回流法、酶法、超声提取法等。

2.1 回流法

在氯化两面针碱的提取方法中, 回流法的应用最广泛, 主要有醇回流和酸醇回流两种方法。雷欣潮等 (2011) 以 80% 的乙醇回流提取, 采用正交设计优选出了最优提取工艺。黄晓燕等 (2011) 对比了醇回流和酸醇回流法的提取效果, 结果表明加酸回流较普通醇回流可以大大提高提取率, 对改进两面针碱的提取工艺有推进作用。赵森等 (2015) 采用 80% 的乙醇 8 倍量提取, 同时加入盐酸调节 pH 至 5, 最终总生物碱的提取率平均为 12.8%, 氯化两面针碱的含量达到 $41 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。酸醇回流能够提高氯化两面针碱的提取率, 但提取时间长, 加剧了对设备的酸腐蚀程度。曾淼洋等 (2013, 2014) 对酸醇回流工艺进行了改良, 采用了内部沸腾法, 不仅萃取温度降低, 时间缩短, 而且总酸醇的用量减少, 减轻了对设备的腐蚀。

2.2 酶法

目前, 生物碱大都是从植物中提取, 由于利用纤维素酶可以首先破坏植物的细胞壁, 所以提取有效成分是一种有效手段 (刘红军和廖国玲, 2007)。陆世惠和李秀霞 (2013a) 先用纤维素酶/果胶酶的混合酶对两面针药材进行酶解, 再用酸醇回流法室温浸渍提取, 氯化两面针碱的提取率为 85.96%。酶预处理萃取法减少了提取次数和溶剂的用量, 符合节能环保的生产要求。

2.3 超声波辅助提取法

超声波提取是利用超声波产生的空化作用、热效应、震动作用使植物细胞壁破裂, 加速有机溶剂进入细胞内部, 促使细胞中的生物碱溶解到溶剂中达到提取目的 (郭孝武, 1999)。目前, 超声波提取主要作为一种辅助方法应用于天然产物的提取分离中。陆世惠和李秀霞 (2013b) 先采用酶预处理, 再用超声提取, 可以将氯化两面针碱的提取率提高到 90.26%。采用超声-酶辅助半仿生提取, 干膏的收率可以显著提高, 适合大生产应用 (陆世惠等, 2014)。李秀霞等 (2015) 采用半仿生-超声法提取, 先用复合酶预处理, 再采用枸橼酸-三

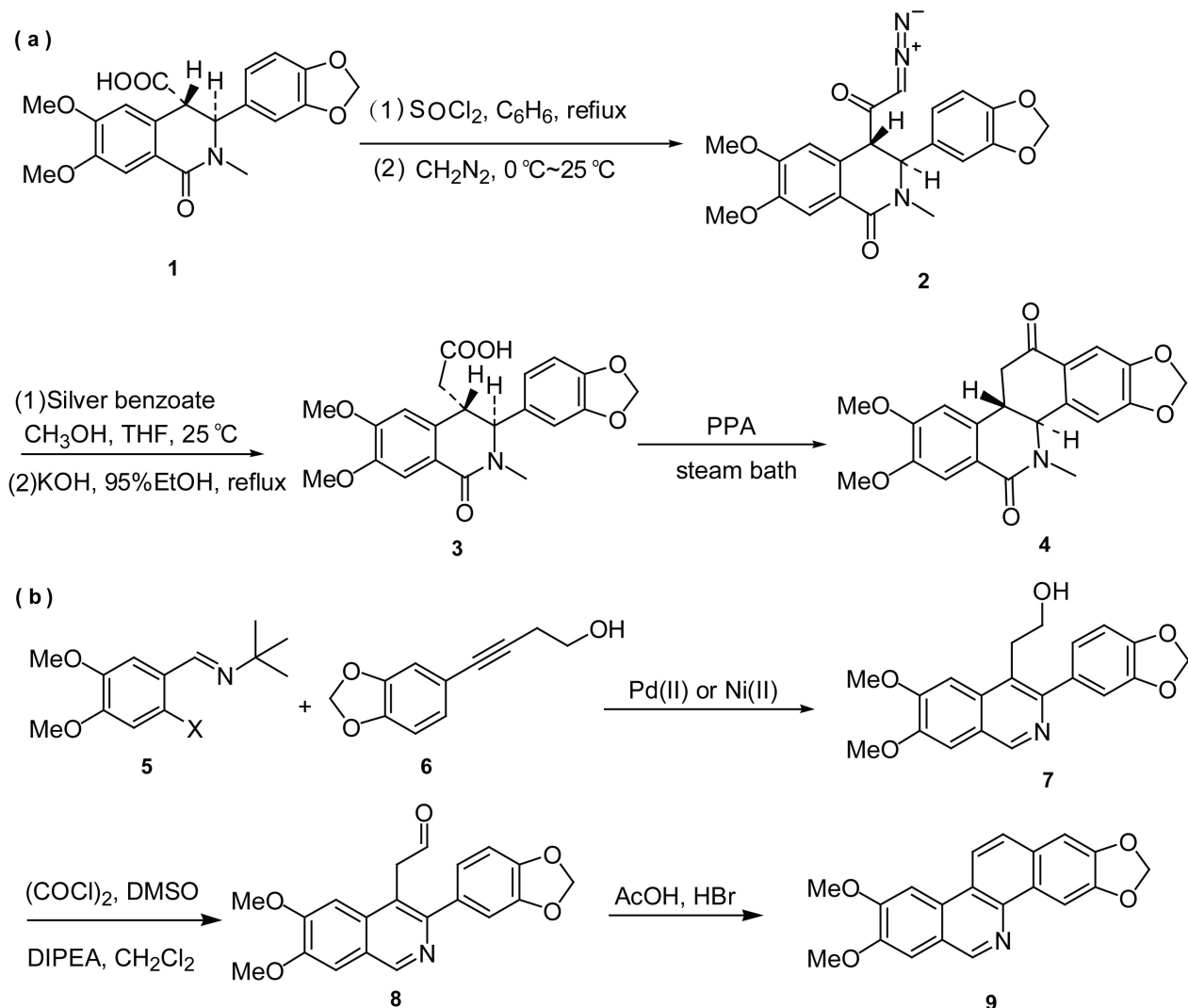


图 2 Friedel-Crafts 反应路线

Fig. 2 Friedel-Crafts reaction route (Cushman & Cheng, 1978; Luo et al, 2006)

乙胺的 60%乙醇提取溶剂超声提取,氯化两面针碱的得率为 0.252%,这种方法可以克服纯水缓冲液水溶性较差的问题,促使提取率升高。酸醇回流操作简便,提取率高,但对设备的腐蚀问题不容忽视,对规模化工业生产不利。酶、超声辅助提取法在保持提取率的同时摒弃了酸的使用,大大减少了溶剂的使用量,在解决腐蚀问题的同时更加环保。

3 氯化两面针碱的分离纯化

两面针中的生物碱种类繁多,如白屈菜红碱、茵芋碱、二氢白屈菜红碱、鹅掌楸碱、氯化两面针碱、氧化两面针碱等。为了得到更加纯净的氯化两

面针碱,需要在提取粗品的基础上进一步纯化,这方面的研究报道较少。

3.1 结晶法

黄治勋和李志和(1980)、王玫馨(1980)对两面针植物的甲醇提取液处理后静止结晶,纯化析出氯化两面针碱晶体,但实验过程中需要用到氯仿,对环境污染较大。

3.2 树脂吸附法

卢凌春等(2010)采用 Ls006 阳离子树脂,通过静态吸附-解析的方法对氯化两面针碱富集纯化,纯度在 90%以上。曾森洋等(2014)用 732 阳离子树脂静态吸附加酸内部沸腾法的提取液,超声辅助解吸,解吸率在 99%以上,氯化两面针碱纯度为

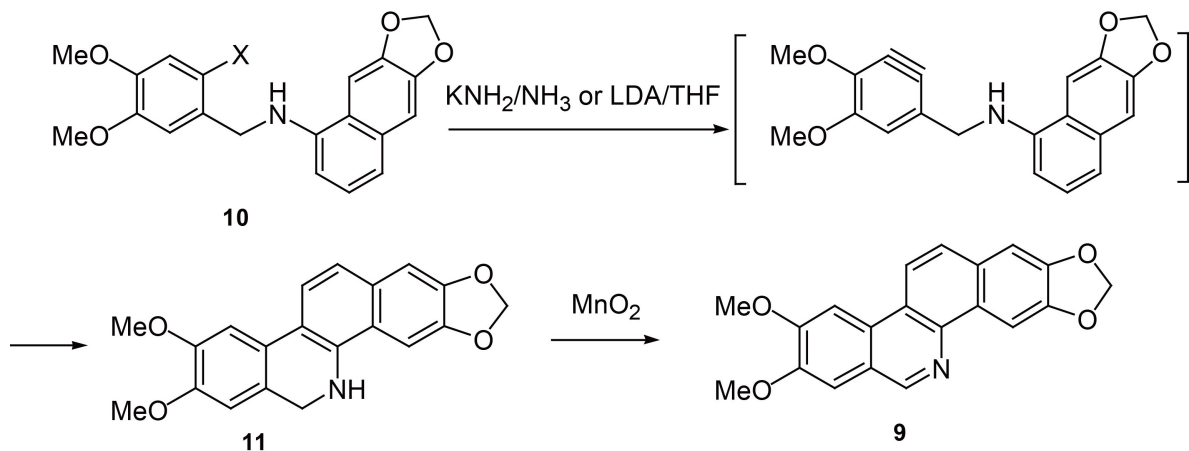


图 3 Kessar 苯炔成环法

Fig. 3 Alkyne cyclization (Kessar et al, 1988)

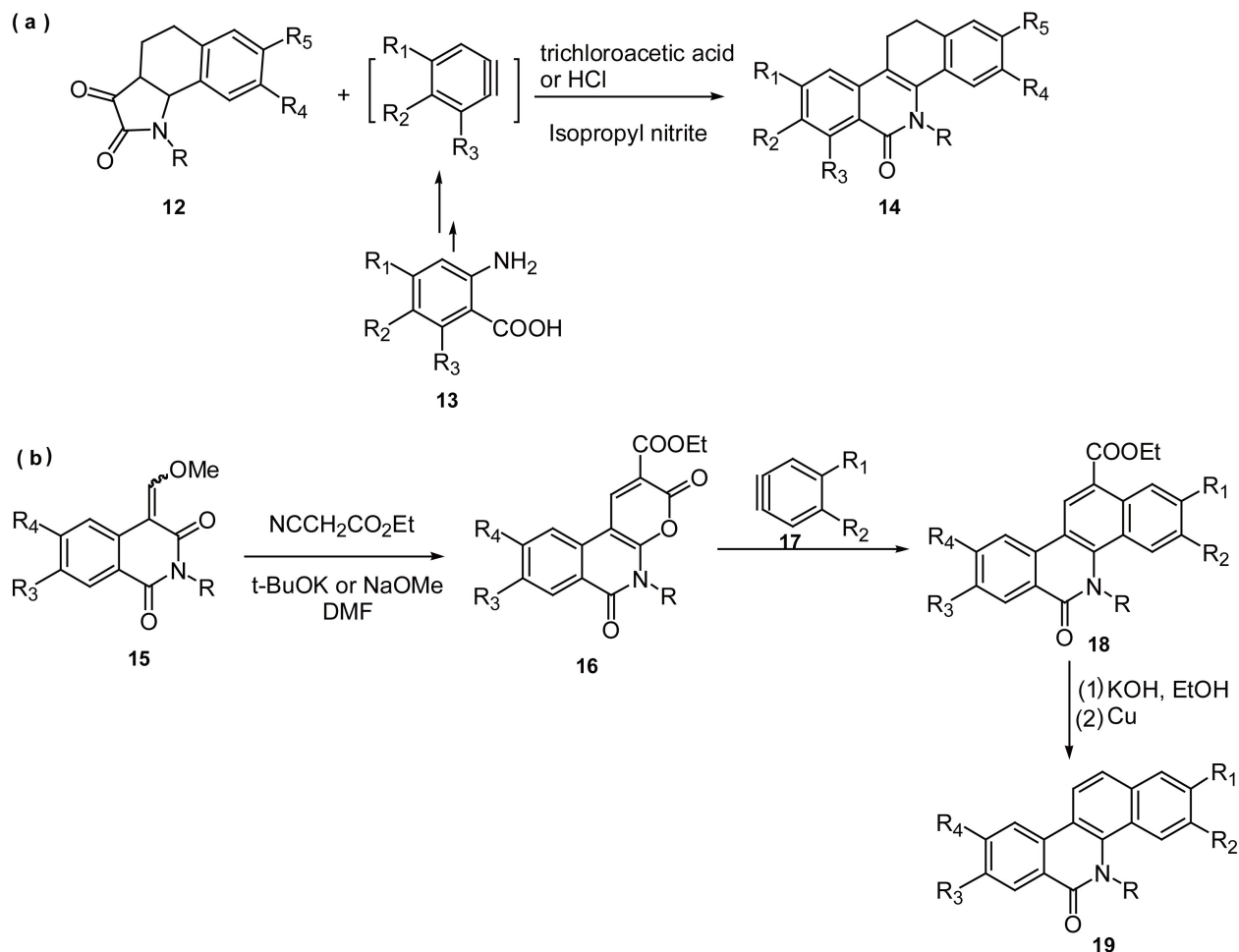


图 4 苯炔环加成路线

Fig. 4 Alkyne cyclization (Martín et al, 1993; Perez et al, 1993)

94.5%。树脂纯化法效果突出、操作简单、成本低，具有工业应用价值。

3.3 色谱法

黄艳等(2013)将两面针根的浸膏用氯仿反复

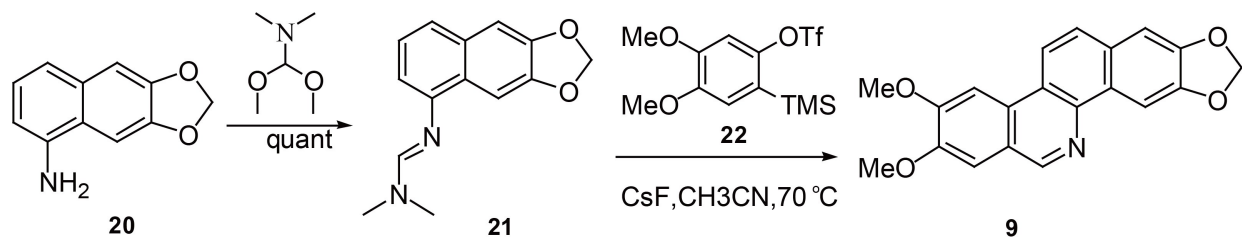


图 5 串联法制备两面针碱

Fig. 5 Cascade reaction for nitidine (Castillo et al, 2015)

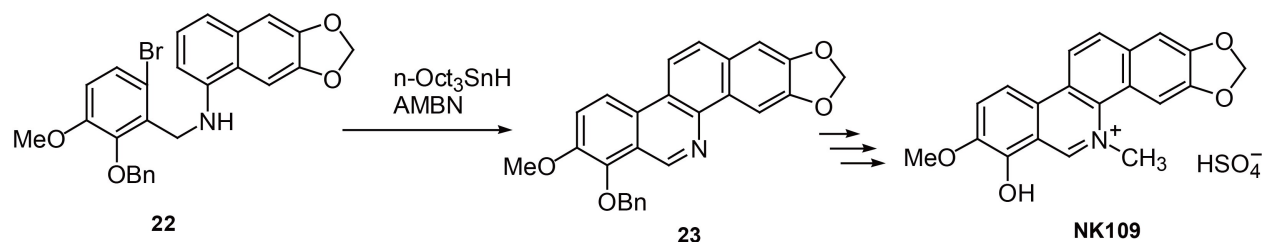


图 6 分子内自由基反应制备 NK 109

Fig. 6 Intramolecular radical reaction for NK109 (Nakanishi & Suzuki, 1999)

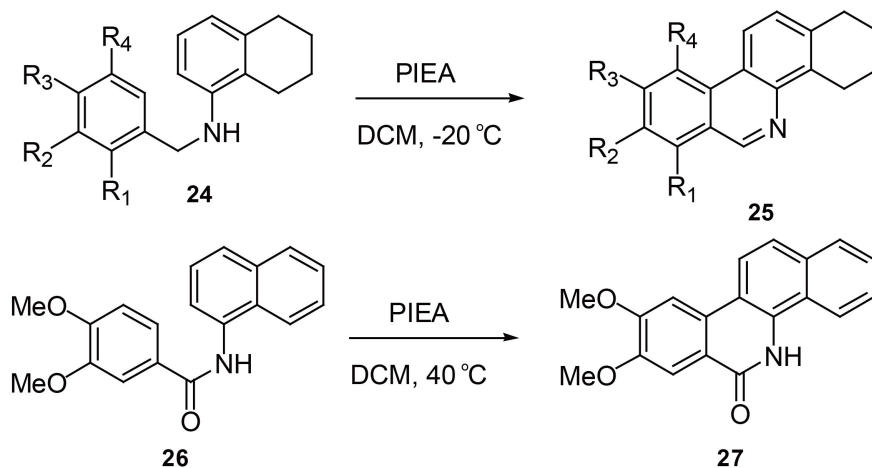


图 7 自由基偶联法

Fig. 7 Radical coupling reaction (Moreno et al, 2001)

研磨,所得沉淀甲醇溶解先重结晶,粗品再二次重结晶后用高效液相色谱法分离纯化,采用 C-18 色谱柱洗脱,得到纯度大于 98% 的氯化两面针碱,该样品可作为质量控制和科研用的化学对照品。

4 氯化两面针碱的全合成

目前,氯化两面针碱成品主要从植物中提取分离,提取率低,价格昂贵,难以满足系统研究的需

要。为了解决这一难题,学者们致力于探索氯化两面针碱的高效全合成方法,其中最关键的步骤是 B 环或 C 环的构筑。该文将按照成环的化学方法进行分类概述。

4.1 Friedel-Crafts 反应

早在 1978 年,Cushman & Cheng(1978)发展了一条开创性的全合成路线,其中就有利用分子内的 Friedel-Crafts 反应构建 C 环(图 2:a)。中间体(1)先经 Arndt-Eistert 反应、Wolff 重排后发生 Friedel-

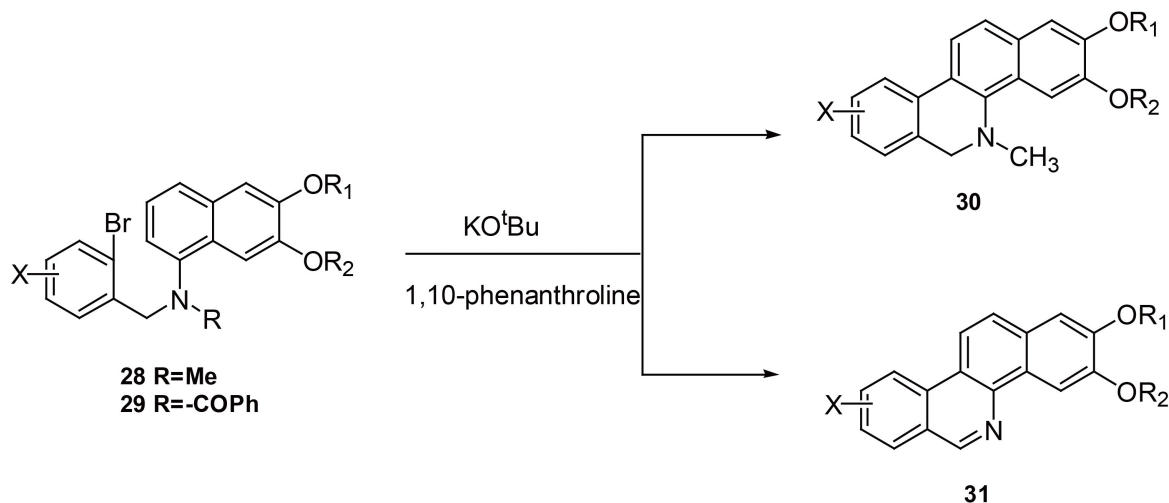


图 8 叔丁醇钾催化法

Fig. 8 Catalytic reaction by potassium tert-butoxide (De et al, 2013)

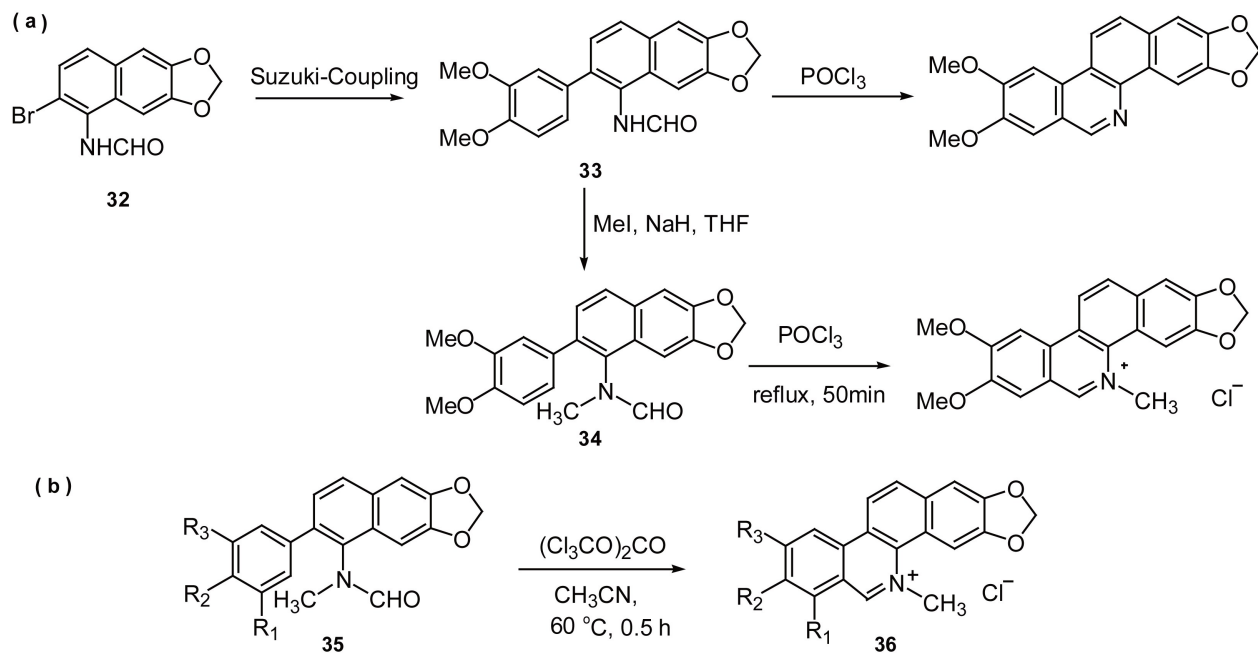


图 9 Bischler-Napieralski 环合法

Fig. 9 Bischler-Napieralski cyclization (Geen et al, 1998; Saito et al, 2001)

Crafts 反应得到关键中间体(4),再经过氢化锂铝还原、脱氢反应完成 C 环的构筑。Luo et al(2006)在合成 N-去甲基两面针碱时也利用了分子内的 Friedel-Crafts 反应(图 2;b),先通过镍或钨催化环化完成 B 环的构建得到中间体(7),再经 Swern 氧化得到中间体(8),最后在酸性条件下发生 Friedel-Crafts 反应得到 N-去甲基两面针碱(9)。相较于

Cushman 路线。该路线的原料易得,摒弃了危险品重氮甲烷,路线短,收率大大提高。

4.2 苯炔法

苯炔法应用较早。Kessar et al(1988)通过苯炔环化法构建两面针碱的 B 环(图 3)。中间产物(10)在强碱 KNH₂/NH₃作用下生成苯炔中间体,进一步环加成、氧化后得到 N-去甲基两面针碱,但产

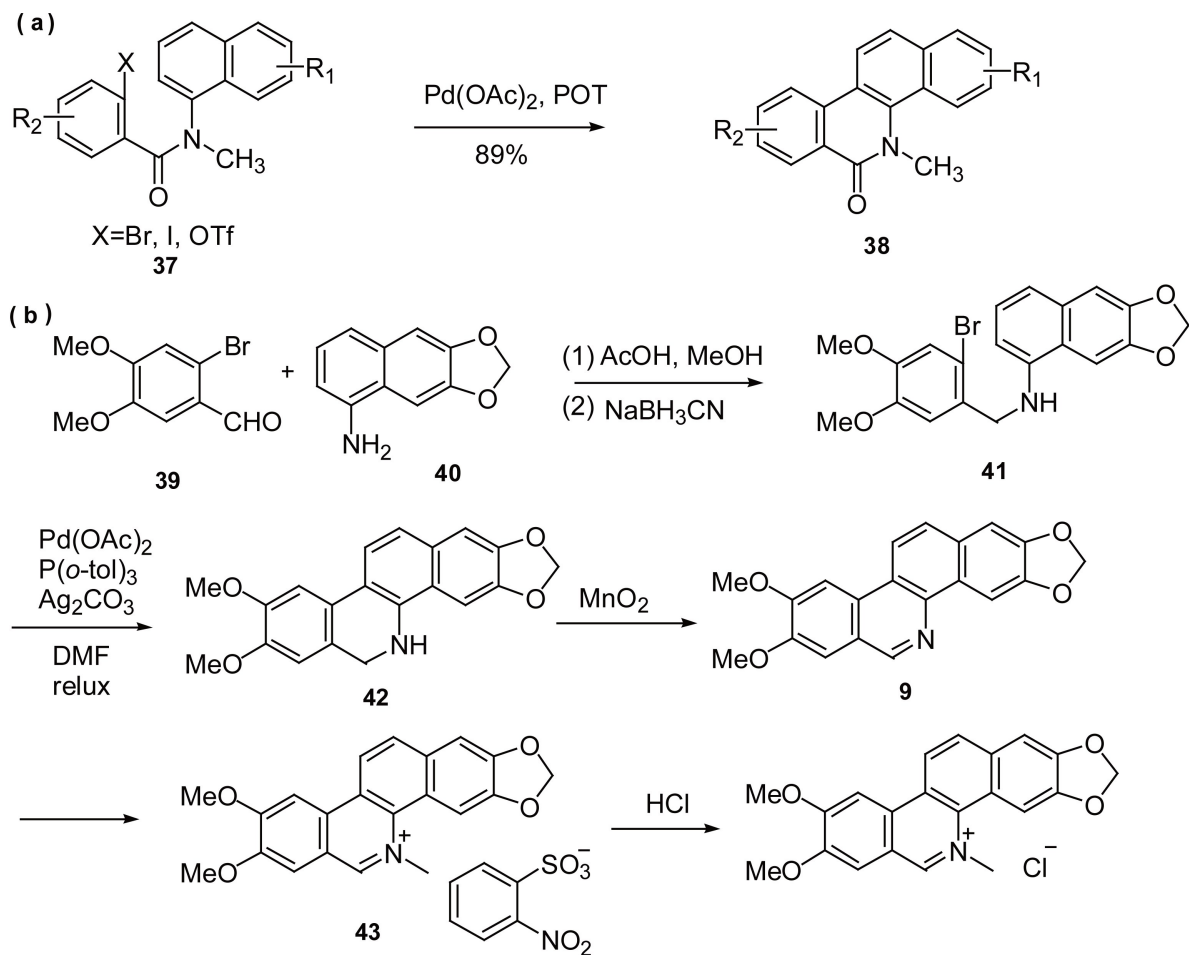


图 10 Heck 偶联路线

Fig. 10 Heck coupling reaction route (Harayama, 2005; Xu et al, 2015)

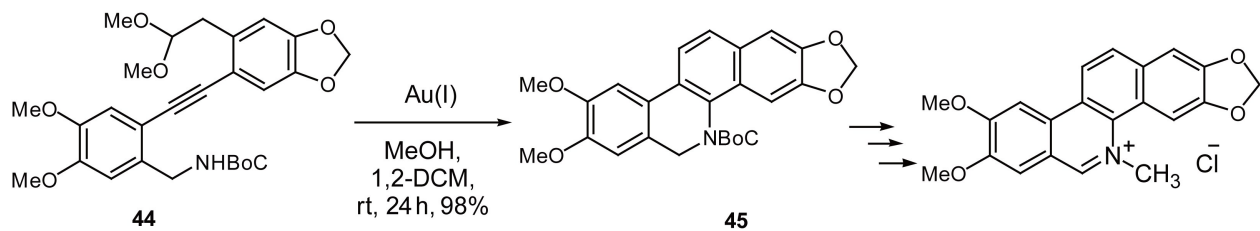


图 11 金催化路线

Fig. 11 Catalytic reaction route by Au (I) reagent (Enomoto et al, 2010)

率极低,为10%左右。之后,用LDA/THF在 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 发生反应,收率明显提高,但需要严格控制无氧环境,否则收率极低,甚至反应不发生。Martín et al (1993)提出利用分子间苯炔环加成法合成两面针碱(图4:a)。化合物(12)充当氮杂二烯等价体与苯炔发生分子间[4+2]环加成反应构筑异喹啉类生

物碱骨架,该路线选择性好但产率不高。Perez et al (1993)利用吡喃酮衍生物与苯炔发生分子间Diels-Alder反应构建C环,产物(19)经还原脱氢后可以得到两面针碱(图4:b)。2015年,Castillo et al (2015)发展了串联法快速制备官能团化异喹啉骨架,可用于两面针碱的全合成(图5)。该合成路线

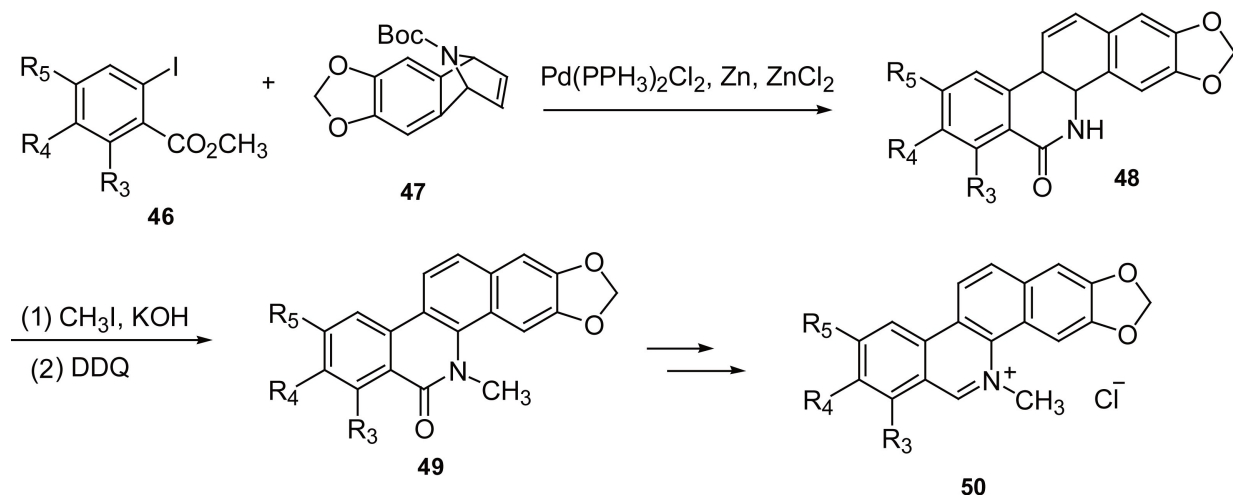


图 12 钯催化路线

Fig. 12 Catalytic reaction route by Pd (II) reagent (Lv et al, 2011)

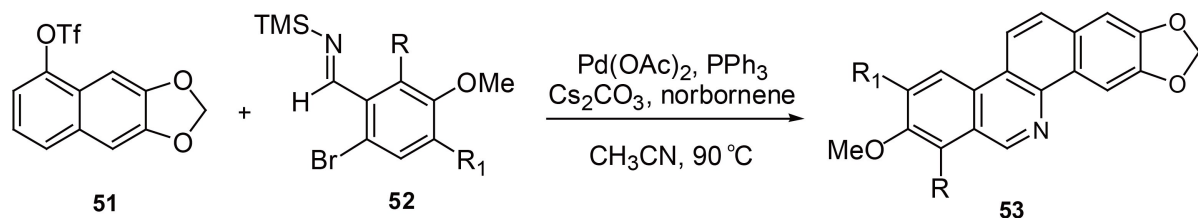


图 13 钯催化路线

Fig. 13 Catalytic reaction route by Pd (II) reagent (Blanchot et al, 2011)

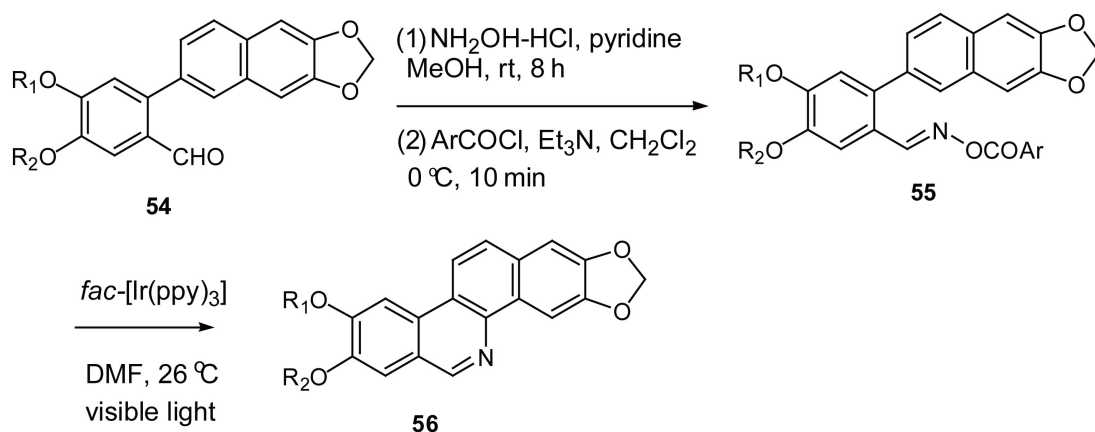


图 14 光催化路线

Fig. 14 Photocatalytic route (Jiang et al, 2015)

原料易制备、反应条件温和、收率中等。

4.3 自由基反应

Nakanishi & Suzuki (1999) 通过自由基机制引发分子内的芳基-芳基偶联构建 B 环 (图 6)。在锡试

剂和偶氮二异戊腈 (AMBN) 的引发下, 中间体 (22) 发生芳基偶联反应生成环产物 (23), 进一步反应得到抗癌化合物 NK 109。2001 年, Moreno et al (2001) 利用高价碘试剂 (PIFA) 引发自由基偶联反

应构建 B 环(图 7)。该方法步骤短、条件温和、产率较高,但取代基对反应活性影响大,不具有普适性。2013 年,De et al(2013)提出直接由叔丁醇钾与有机小分子促进的分子内自由基偶联反应来合成苯并菲啶类生物碱(图 8)。当氮原子上的取代基为烷基时,得到二氢苯并菲啶结构,改变取代基为芳酰基,则一锅反应发生芳基偶联、氧化脱保护直接生成芳构化产物。该方法路线短,催化剂对环境友好,可用于多种生物碱的合成。

4.4 Bischler-Napieralski 反应

Bischler-Napieralski 环合反应是构建两面针碱 B 环的常用方法之一。Geen et al(1998)采用三氯氧磷(POCl_3)催化关键中间体(33)或(34)发生 Bischler-Napieralski 环合反应,分别得到 N-去甲基两面针碱和氯化两面针碱,B-N 环合反应收率在 90% 以上(图 9:a)。Saito et al(2001)改用固体光气作为催化剂,降低了反应温度,缩短了反应时间,后处理更容易(图 9:b)。

4.5 金属催化

金属催化是近几年发展比较热门的苯并菲啶生物碱的合成方法。Harayama et al(2005)最早在 2005 年发展了钯催化的分子内芳基-芳基偶联反应直接构筑氧化两面针碱(图 10:a)。Xu et al(2015)在 Suzuki 的合成路线基础进行了进一步改良,提出醋酸钯催化分子内 Heck 偶联,五步反应完成氯化两面针碱的合成(图 10:b)。Enomoto et al(2010)提出金(I)催化分子内氢胺化串联反应,高收率完成两面针碱 B 环和 C 环的构建(图 11)。LÜ et al(2011)提出钯催化串联反应合成氧化苯并菲啶结构(图 12)。邻碘苯甲酸甲酯衍生物(46)与 N-杂双环中间体(47)在二价钯金属和锌试剂的联合催化下发生开环耦合-关环反应,高收率得到产物(48)。该方法路线精简、收率高。Blanchot et al(2011)采用芳香三氟甲基磺酸酯替代芳香碘化合物(图 13),在钯催化下与 N-硅基亚胺(52)发生串联反应制备苯并菲啶衍生物,可以有效合成两面针碱、NK 109 等,总收率中等。

4.6 光化学反应

2015 年,Jiang et al(2015)提出了一种新的方法,利用可见光在室温下诱导酰肼产生亚胺自由基,进一步发生分子内芳香取代反应生成含氮杂环,高效合成多种官能团化的苯并菲啶衍生物(图 14)。近年来,越来越多有效合成两面针碱的方法

得到探索,为两面针碱的全合成、构效关系及生物活性的研究提供了便利。在这些全合成路线中,一些反应路线过长,总收率较低;一些路线虽然缩短,关键步骤收率高,但存在原料制备复杂或试剂昂贵的缺陷。因此,寻找高效且经济的全合成路线制备两面针碱及衍生物仍然是一个挑战和研究热点。

5 两面针碱的药理活性

氯化两面针碱具有良好的生物活性,在抗肿瘤、镇痛消炎、抗疟疾、抗菌、抗 HIV 病毒、心血管等方面都有显著作用。

5.1 抗肿瘤

近年来,国内外学者对两面针碱的抗肿瘤作用和机制进行了研究,发现其对肝癌、肺癌、卵巢癌、乳腺癌等都有显著功效。但作用机制尚存在争议,主要包括抑制 DNA 拓扑异构酶,诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期和抑制 DNA 连接酶的活性等,可以通过调节多种信号通路(如 ERK、JAK/STAT3、AKT 等)抑制肿瘤细胞。

Fang et al(1993)和 Wang et al(1993)研究表明氯化两面针碱及其类似的苯并菲啶化合物为拓扑异构酶 I(topoisomerase I)的功能抑制剂,浓度为 $0.15 \sim 0.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时即可稳定拓扑异构酶 I 和 DNA 形成的共价二元复合物。黄怡等(2013)发现氯化两面针碱可使肝癌细胞 SMMC-7721 的 E2F、RB 基因的 mRNA 和 E2F 蛋白的表达明显降低,阻滞肝癌细胞 G_1 期向 S 期的转变,抑制肝癌细胞的增殖,并诱导细胞的凋亡,细胞增殖的抑制率最大 IC_{50} 为 $(1.05 \pm 0.12) \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。Sun et al(2014)研究表明氯化两面针碱能够上调 Bax/Bcl-2 的比例,诱导肿瘤细胞的 G_2/M 期阻滞从而诱导乳腺癌细胞的凋亡。刘华钢等(2007)发现通过增加两面针碱的浓度能显著抑制 KB 细胞的增殖,低浓度时以 G_2/M 期阻滞为主,中浓度时可诱导凋亡,高浓度时则以致其坏死为主。Lin et al(2014)对患有肝癌的小鼠给予氯化两面针碱,发现肿瘤的体积和质量显著减小,但小鼠的体重并无明显的变化,证实了两面针碱的抗肝癌活性;同时,他们的研究表明两面针碱通过抑制 STAT3、ERK 和 SHH 多条信号通路,改变关键基因的表达从而抑制肿瘤细胞的繁殖并促使其凋亡。Zhai et al(2016)和 Sun et al(2016)研究发现氯化两面针碱能通过调控 ERK 信号通路改变关

键基因的表达,抑制结肠癌细胞和卵巢癌细胞的增殖与迁移,并促使其凋亡。Cheng et al(2016)使用超过 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氯化两面针碱作用 U2OS 骨肉瘤细胞 24 h 后,观察到肿瘤细胞增殖、迁徙和侵袭能力均受到显著抑制,并证实氯化两面针碱的有效作用是通过 AKT/GSK-3 β /Snail 信号通路完成的。Li et al(2017)开发了一种氯化两面针碱的超分子试剂 NC@CB[7],相较于单体氯化两面针碱,其对人体正常肝细胞 LO2 的 IC_{50} 大大降低,但对乳腺癌细胞 MCF-7 的 IC_{50} 提高很多,表明 CB[7] 超分子结构的参与能够明显减轻对肝细胞的毒性同时提高抗癌活性,为其它药物的超分子配方打开新思路。

5.2 抗疟疾

Jullian et al(2006)从 *Zanthoxylum rhoifolium* 中分离得到多种苯并菲啶类生物碱,发现两面针碱对恶性疟原虫的活性最强, $\text{IC}_{50} < 0.27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Bouquet et al(2012)发现两面针碱对氯喹敏感株和氯喹耐药株在体外的活性相似,并在体外实验中证实氯化两面针碱可以与血红素形成 1:1 的复合物,抑制 β -血红素形成。Nyangulu et al(2005)在氯化两面针碱的结构基础上进行了进一步修饰,这些化合物的抗疟活性更加强于氯化两面针碱。

5.3 抗菌作用

两面针碱对多种细菌、真菌具有抑制和杀灭的作用。Poeta et al(1999)在体外实验中发现,氯化两面针碱能够有效抑制真菌的感染,效果与喜树碱相当,是一类很有前景的抗真菌化合物。叶玉珊等(2013)对两面针根中分离到的 11 种化合物进行了抗菌活性研究,结果发现氯化两面针碱对六大类抗生素均耐药的耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)有较强的杀菌活性。Zhang et al(2014)从花椒叶中的乙酸乙酯提取部分分离得到氯化两面针碱,发现其对五种病原菌(*Botrytis cinerea*, *Piricularia oryzae*, *Physalospora piricola*, *Glomerella cingulate* and *Venturia pyrina*)的抗菌活性均超过了 50%,其中对 *Glomerella cingulate* 的抑菌活性最强。Tavares et al(2014)证实两面针碱对酵母菌的 MIC 值为 $6.25 \sim 25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,抗真菌活性较强。Cesari et al(2015)研究发现氯化两面针碱对芽孢杆菌 ATCC 3584 和化脓性链球菌 ATCC 19615 有明显的杀菌和抑菌作用(MIC 值分别为 $0.19, 3.64 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

5.4 抗炎止痛作用

两面针在民间常用于跌打损伤、消炎止痛。利用两面针开发的口腔护理产品正是基于其在抗炎、镇痛及止血方面的功效。刘绍华等(2005)对两面针提取物进行了镇痛、抗炎实验,采用热板法和扭体法研究提取物对小鼠的镇痛作用,用二甲苯致小鼠耳廓肿胀法及腹腔染料渗出法来研究抗炎作用,结果表明两面针提取物对小鼠具有非常显著的镇痛和抗炎作用。Wang et al(2012)采用脂多糖诱导的 Raw264.7 小鼠巨噬细胞研究两面针碱的体外抗炎机制,研究表明氯化两面针碱通过抑制 MAPK 的磷酸化和 p65 的转录,能够在 RNA 和蛋白质水平上大幅度的减少促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的生成,具有显著的抗炎作用,这一发现为炎症疾病的治疗提供了新的前景。Wang et al(2016)在帕金森病模型研究中发现,两面针碱能够抑制 Jak2-Stat3 信号通路,增强 $\alpha\beta$ 晶体与 p-Stat3 之间的结合活性,从而抑制小胶质细胞介导的炎症,保护多巴胺神经元,是治疗帕金森病的潜在药物。

5.5 对心血管的作用

Wei et al(2006)研究表明氯化两面针碱能够减少心肌缺血再灌注大鼠心肌酶的释放,减轻氧自由基损伤程度,从而降低心肌缺血再灌注大鼠心律失常的发生率,推迟心律失常的发生时间,不仅缩短其持续时间,而且该作用呈一定的剂量依赖性。

5.6 其他

除上述的生理功能外,两面针还在抗白血病、抗 HIV、抗肝损伤等方面具有很好的活性。Liu et al(2015)发现氯化两面针碱通过增加 Thr58 磷酸化水平加快 c-Myc 的降解,并下调 c-Myc 激活的 miRNA,对 K562 细胞及原代 CML 细胞有杀伤作用。Wang et al(2015)发现氯化两面针碱可调节 HIV-1 启动子的表达和稳定 G-四链体,当加入氯化两面针碱时 G-四链体的 T_m 值范围为 $56.6 \sim 63.2 \text{ }^\circ\text{C}$,为抗 HIV-1 药物开发提供了新方法。

庞辉等(2006)研究了两面针提取物对四氯化碳肝损伤的保护作用,结果表明两面针提取物能明显降低动物模型血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和肝匀浆丙二醛(MDA)的含量,提高肝脏超氧化物歧化酶(SOD)的活性,并显示出一定的剂量依赖性,说明两面针对化学性肝损

伤具有明显的保护作用。

6 展望

两面针碱的抗菌、抗炎和抗肿瘤性能良好,具有极好的开发潜能,应用前景广阔。但是,其在天然植物中的含量少,提取分离得率较低,不能满足研究与规模生产的需要。因此,人工合成仍然是最优先考虑的手段。

许多学者从不同的反应路径出发实现了两面针碱的全合成,但由于受到全合成路线或起始原料多样性的影响,几乎没有两面针碱结构衍生物的合成报道,特别是特定位点的取代衍生物。关于两面针碱的化学结构,如氧原子、取代基的位置、种类与位阻、亚甲基以及其他结构与活性之间的构效关系如何尚不清楚,极大地限制了这一化合物的发展。因此,开发新型化学反应,优化合成路线,经济高效地合成目标产物和结构衍生物,并在此基础上系统地研究构效关系应是未来研究的重点之一。此外,氯化两面针碱作为一类苯并菲啶生物碱,可能存在体外试验活性很高,但由于代谢途径或稳定性的原因,体内试验的结果可能并不理想,这就需要研究者在设计衍生结构时不仅要考察活性的提高,而且更要充分地考虑稳定性,提高生物利用度。

目前,两面针碱的抗肿瘤机制争议较大,存在多种理论,这方面的研究有待进一步加强。研究两面针碱化合物及其衍生物的抗肿瘤机制,能够更加清晰地阐述各活性衍生物对肿瘤细胞的影响,确证两面针碱衍生物的抗肿瘤物质基础,这对构效关系的阐述极为重要,可以进一步指导结构的改造以筛选出活性更好、类药性更高的先导化合物,为开发创新型药物奠定基础。

参考文献:

ARTHUR HR, HUI WH, NG YL, 1959. An examination of the Rutaceae of Hong Kong. Part II. The alkaloids, nitidine and oxynitidine, from *Zanthoxylum nitidum* [J]. J Chem Soc, 13(4): 510-513.

BAI LP, ZHAO ZZ, CAI Z, et al, 2006. DNA-binding affinities and sequence selectivity of quaternary benzophenanthridine alkaloids sanguinarine, chelerythrine, and nitidine [J]. Bioorg Med Chem, 14(16): 5439-5445.

BLANCHOT M, CANDITOD A, LARNAUD F, et al,

2011. Formal synthesis of nitidine and NK109 via palladium-catalyzed domino direct arylation/N-arylation of aryl triflates [J]. Org Lett, 13(6): 1486-1489.

BOUQUET J, RIVAUD M, CHEVALLEY S, et al, 2012. Biological activities of nitidine, a potential anti-malarial lead compound [J]. Malar J, 11(1): 67-74.

CASTILLO JC, QUIROGA J, ABONIA R, et al, 2015. The aryne aza-Diels-Alder Reaction; Flexible syntheses of isoquinolines [J]. Org Lett, 17(13): 3374-3377.

CESARI I, GRISOLI P, PAOLILLO M, et al, 2015. Isolation and characterization of the alkaloid nitidine responsible for the traditional use of *Phyllanthus muellerianus* (Kuntze) Ex-cell stem bark against bacterial infections [J]. J Pharm Biomed Anal, 105(11): 115-120.

CHENG Z, GUO Y, YANG Y, et al, 2016. Nitidine chloride suppresses epithelial-to-mesenchymal transition in osteosarcoma cell migration and invasion through Akt/GSK-3 β /Snail signaling pathway [J]. Oncol Rep, 36(2): 1023-1029.

CUSHMAN M, CHENG L, 1978. Total synthesis of nitidine chloride [J]. J Org Chem, 43(2): 286-288.

DE S, MISHRA S, KAKDE BN, et al, 2013. Expedient approach to pyrrolophenanthridones, phenanthridines, and Benzo [c]phenanthridines via organocatalytic direct Biaryl-Coupling promoted by potassium *tert*-Butoxide [J]. J Org Chem, 78(16): 7823-7844.

ENOMOTO T, GIRARD AL, YAUSI Y, et al, 2010. Gold(I)-Catalyzed tandem reactions initiated by hydroamination of alkynyl carbamates: Application to the synthesis of nitidine [J]. J Org Chem, 41(17): 9158-9164.

FANG SD, WANG LK, HECHT SM, 1993. Inhibitors of DNA topoisomerase I isolated from the roots of *Zanthoxylum nitidum* [J]. J Org Chem, 58(19): 5025-5027.

GEEN GR, MANN IS, MULLANE MV, et al, 1998. A versatile synthesis of fully aromatic Benzo [c]phenanthridine alkaloids [J]. Tetrahedron, 54(33): 9875-9894.

GUO XW, 1999. A method to extract chemical components from Chinese herbs-ultrasonic method [J]. Nat Prod Res Dev, 11(3): 37-40. [郭孝武, 1999. 一种提取中草药化学成分的方法—超声提取法 [J]. 天然产物研究与开发, 11(3): 37-40.

HARAYAMA T, 2005. Synthesis of Benzo [c]phenanthridine alkaloids using a Palladium-Catalyzed Aryl-Aryl coupling reaction [J]. J Org Chem, 65(3): 697-711.

HU J, ZHANG WD, LIU RH, et al, 2006. Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. and their analgesic and anti-inflammatory activities [J]. Chem Biodivers, 3(9): 990-995.

HUANG XY, HUANG GW, QIN QY, et al, 2011. Comparison of nitidine chloride content in two different extraction methods of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. [J]. Oral care Ind, 21(5): 21-23. [黄晓燕, 黄光伟, 覃青云, 等, 2011. 两面针两种不同提取工艺方法氯化两面针碱含量的比较 [J]. 口腔护理用品工业, 21(5): 21-23.]

HUANG ZX, LI ZH, 1980. Study on effective constituents of nitidine antitumor [J]. Acta Chem Sin, 38(6): 535-542. [黄治勋, 李志和, 1980. 两面针抗肿瘤有效成分的研究 [J]. 化学学报, 38(6): 535-542.]

HUANG Y, LIU BM, LAI MX, et al, 2013. Preparation of ref-

- erence substance of nitidine chloride from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. [J]. *Guangxi Sci*, 20(3): 258–260. [黄艳, 刘布鸣, 赖茂祥, 等, 2013. 两面针中氯化两面针碱对照品的制备 [J]. 广西科学, 20(3): 258–260.]
- HUANG Y, LIAO LF, HUANG WT, et al, 2013. The mechanism of effect on RB/E2F pathway of nitidine chloride inhibiting proliferation of SMMC-7721 [J]. *Pharm Biotechnol*, 20(1): 17–20. [黄怡, 廖柳凤, 黄文涛, 等, 2013. 氯化两面针碱通过 RB/E2F 途径抑制肝癌细胞 SMMC-7721 增殖作用机制研究 [J]. 药物生物技术, 20(1): 17–20.]
- JIANG H, AN X, TONG K, et al, 2015. Visible-Light-Promoted Iminyl-Radical formation from acyl oximes: A unified approach to pyridines, quinolines, and phenanthridines [J]. *Angew Chem Int Ed*, 54(13): 4055–4059.
- JULLIAN V, BOURDY G, GEORGES S, et al, 2006. Validation of use of a traditional antimalarial remedy from French Guiana, *Zanthoxylum rhoifolium* Lam [J]. *J Ethnopharmacol*, 106(3): 348–352.
- KANG M, OU H, WANG R, et al, 2014. The effect of nitidine chloride on the proliferation and apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *J BUON*, 19(1): 130–136.
- KESSAR SV, GUPTA YP, BALAKRISHNAN P, et al, 1988. Benzyne cyclization route to Benzo [c]phenanthridine alkaloids. synthesis of chelerythrine, decarine, and nitidine [J]. *J Org Chem*, 53(8): 1708–1713.
- LEI XC, LIU HG, LAI MX, et al, 2011. Optimization of extraction technology of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. by orthogonal test [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*, 22(10): 2494–2495. [雷欣潮, 刘华钢, 赖茂祥, 等, 2011. 正交实验法优选两面针的提取工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 22(10): 2494–2495.]
- LI XX, LU HM, LU SH, et al, 2015. Comparison of extraction technologies for alkaloids from *Zanthoxylum nitidum* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 27(4): 572–577. [李秀霞, 卢红梅, 陆世惠, 等, 2015. 两面针生物碱不同提取方法的比较 [J]. 天然产物研究与开发, 27(4): 572–577.]
- LI W, HANG Y, BARDELANG D, et al, 2017. Supramolecular formulation of nitidine chloride can alleviate its hepatotoxicity and improve its anticancer activity [J]. *Food Chem Toxicol*, 109(2): 923–929.
- LIN JM, SHEN A, CHEN H, et al, 2014. Nitidine chloride inhibits hepatic cancer growth via modulation of multiple signaling pathways [J]. *BMC Cancer*, 14(1): 729–739.
- LIU HJ, LIAO GL, 2007. Research progress on extraction, isolation and purification of alkaloids [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*, 18(5): 1230–1231. [刘红军, 廖国玲, 2007. 生物碱提取、分离和纯化的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 18(5): 1230–1231.]
- LIU SH, QIN QY, FANG K, et al, 2005. The effects of the extract (S-0) from *Zanthoxylum nitidum* on analgesia, anti-inflammation and hemostasia in mice [J]. *Nat Prod Res Dev*, 17(6): 758–761.
- LIU YC, CHENG FJ, MENG YQ, et al, 2012. Research progresses on the chemical components, pharmacological activity, and antitumoral mechanism of *Zanthoxylum nitidum* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 24(4): 550–555. [刘延成, 程风杰, 蒙衍强, 等, 2012. 两面针化学成分、药理活性及抗肿瘤机制研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 24(4): 550–555.]
- LIU HG, WANG BL, QIN SH, et al, 2007. Study on G₂/M phase arrest and apoptosis of human carcinoma of mouth floor KB cells *in vitro* induced by nitidine chloride [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*, 18(9): 2104–2106. [刘华钢, 王博龙, 秦三海, 等, 2007. 氯化两面针碱体外诱导人口腔鳞癌 KB 细胞 G₂/M 期阻滞及凋亡的研究 [J]. 时珍国医国药, 18(9): 2104–2106.]
- LIU N, LI P, ZANG S, et al, 2015. Novel agent nitidine chloride induces erythroid differentiation and apoptosis in CML cells through c-Myc-miRNAs axis [J]. *PLoS ONE*, 10(2): 1–18.
- LU SH, LI XX, 2013a. Enzyme-Assisted impregnation extraction of nitidine chloride from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. [J]. *Her Med*, 32(3): 363–366. [陆世惠, 李秀霞, 2013a. 酶法辅助浸渍提取两面针中的氯化两面针碱 [J]. 医药导报, 32(3): 363–366.]
- LU SH, LI XX, 2013b. Study on extraction of nitidine chloride from *Zanthoxylum* by ultrasonic-enzyme method [J]. *Chin Trad Patent Med*, 35(4): 841–844. [陆世惠, 李秀霞, 2013b. 超声—酶法提取两面针中氯化两面针碱的研究 [J]. 中成药, 35(4): 841–844.]
- LU SH, LI XX, LU HM, 2014. Optimization of ultrasonic wave-enzymatic assisted semi-bionic extraction technology for *Zanthoxylum Radix* [J]. *Chin J Exp Trad Med Form*, 20(16): 11–14. [陆世惠, 李秀霞, 卢红梅, 2014. 两面针的超声—酶法辅助半仿生提取工艺优选 [J]. 中国实验方剂学杂志, 20(16): 11–14.]
- LU LC, FANG LQ, LONG SJ, 2010. Separation and purification of nitidine chloride from *Zanthoxylum nitidum* by cation exchange resin [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*, 21(11): 2779–2781. [卢凌春, 方琳乔, 龙盛京, 2010. 阳离子树脂纯化两面针中氯化两面针碱 [J]. 时珍国医国药, 21(11): 2779–2781.]
- LUO Y, MEI Y, ZHANG J, 2006. A concise synthesis of normitidine via nickel-or palladium-Catalyzed annulation [J]. *Tetrahedron*, 62(39): 9131–9134.
- LÜ P, HUANG K, XIE L, et al, 2011. Palladium-Catalyzed tandem reaction to construct Benzo [c]phenanthridine: application to the total synthesis of Benzo [c]phenanthridine alkaloids [J]. *Org Biomol Chem*, 9(9): 3133–3135.
- MARTÍN G, GUITIAN E, CASTEDO L, et al, 1993. Intermolecular benzyne cycloaddition (IBC), a versatile approach to Benzophenanthridine antitumor alkaloids. formal synthesis of nitidine and chelerythrine [J]. *J Org Chem*, 24(9): 5907–5911.
- MORENO I, TELLITU I, ETAYO J, et al, 2001. Novel applications of hypervalent iodine: PIFA mediated synthesis of Benzo [c]phenanthridines and Benzo [c]phenanthridinones [J]. *Tetrahedron*, 57(25): 5403–5411.
- NAKANISHI T, SUZUKI M, 1999. Synthesis and cytotoxic activities of a new Benzo [c]phenanthridine alkaloid, 7-Hydroxynitidine, and some 9-Oxygenated Benzo [c]phenanthridine derivatives [J]. *Org Lett*, 1(7): 985–988.
- NYANGULU JM, HARGREAVES SL, SHARPLES SL, et al, 2005. Antimalarial Benzo [c]phenanthridines [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 15(8): 2007–2010.
- PAN X, HAN H, WANG L, YANG L, et al, 2013. Nitidine chloride inhibits breast cancer cells migration and invasion by suppressing c-Src/FAK associated signaling pathway [J]. *Cancer Lett*, 313(2): 181–191.

- PANG H, TANG GF, HE H, et al, 2006. Protective effects of extracts from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. on experimental liver injury in mice [J]. *Guangxi Med J*, 28(10): 1606-1608. [庞辉, 汤桂芳, 何惠, 等, 2006. 两面针提取物对小鼠实验性肝损伤的保护作用 [J]. *广西医学*, 28(10): 1606-1608.]
- PEREZ D, GUITIAN E, CASTEDO L, 1993. A new approach to the synthesis of antitumor benzophenanthridine alkaloids. formal synthesis of nitidine [J]. *J Org Chem*, 24(9): 5911-5917.
- POETA MD, CHEN SF, HOFF DV, et al, 1999. Comparison of *in vitro* activities of camptothecin and nitidine derivatives against fungal and cancer cells [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 43(12): 2862-2868.
- SAITO T, ISHIKAWA T, YOSHIDA M, 2001. Triphosgene: A versatile reagent for Bischler-Napieralski reaction [J]. *Heterocycles*, 54(1): 437-438.
- SUN M, ZHANG N, WANG X, et al, 2014. Nitidine chloride induces apoptosis, cell cycle arrest, and synergistic cytotoxicity with doxorubicin in breast cancer cells [J]. *Tumour Biol*, 35(10): 10201-10212.
- SUN X, LIN L, CHEN Y, et al, 2016. Nitidine chloride inhibits ovarian cancer cell migration and invasion by suppressing MMP-2/9 production via the ERK signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 13(4): 3161-3168.
- TAVARES LDC, ZANON G, WEBER AD, et al, 2014. Structure-activity relationship of Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium* having antimicrobial activity [J]. *PLoS ONE*, 9(5): 1-10.
- WANG CF, FAN L, TIAN M, et al, 2015. Cytotoxicity of benzophenanthridine alkaloids from the roots of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. var. *fastuosum* How ex Huang [J]. *Nat Prod Res*, 29(14): 1380-1383.
- WANG LK, JOHNSON RK, HECHT SM, 1993. Inhibition of topoisomerase I function by nitidine and fagaronine [J]. *Chem Res Toxicol*, 6(6): 813-818.
- WANG MX, 1980. A study on chemical constituents of *Zanthoxylum nitidum* (Lam) DC-I: Isolation of potential anticancer alkaloids and studies on the structure of alkaloids C [J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci)*, 1(4): 342-402. [王玫馨, 1980. 两面针化学成分的研究—I: 具有抗癌活性生物碱的分离和生物碱丙的结构研究 [J]. *中山医学院学报*, 1(4): 342-402.]
- WANG Z, JIANG W, ZHANG Z, et al, 2012. Nitidine chloride inhibits LPS-induced inflammatory cytokines production via MAPK and NF-kappaB pathway in RAW 264.7 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 144(1): 145-150.
- WANG B, WANG X, YANG S, et al, 2016. Neuroprotective effects of nitidine in Parkinson's disease models through inhibiting microglia activation; role of the Jak2-Stat3 pathway [J]. *Rsc Adv*, 6(75): 71328-71337.
- WANG W, SUI Y, ZHANG L, et al, 2015. Recognition of an important G-quadruplex in the HIV-1 promoter with natural small molecules [J]. *Can J Chem*, 94(1): 60-65.
- WEI JB, LONG SJ, QIN SD, et al, 2006. Protective effects of nitidine chloride on rats during myocardial ischemia/reperfusion [J]. *Chin J Clin Rehabil*, 10(27): 171-174.
- XU XS, LIU ZQ, SHAO WH, et al, 2015. Process improvement on the synthesis of nitidine chloride [J]. *Chin J Org Chem*, 35(6): 1353-1356. [许旭升, 刘志千, 邵文浩, 等, 2015. 氯化两面针碱合成方法的改进 [J]. *有机化学*, 35(6): 1353-1356.]
- YE YS, LIU JW, LIU XQ, et al, 2013. Antibacterial constituents from roots of *Zanthoxylum nitidum* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 44(12): 1546-1551. [叶玉珊, 刘嘉炜, 刘晓强, 等, 2013. 两面针根抗菌活性成分研究 [J]. *中草药*, 44(12): 1546-1551.]
- ZENG MY, WEI TY, TONG ZF, 2014. Study on extraction and purification of nitidine chloride by acid inner ebullition [J]. *J Chem Eng Chin Univ*, 28(4): 719-724. [曾淼洋, 韦藤幼, 童张法, 2014. 加酸内部沸腾法提取氯化两面针碱及其纯化研究 [J]. *高等化学工程学报*, 28(4): 719-724.]
- ZENG MY, WEI TY, TONG ZF, 2013. Study on extraction of nitidine chloride by acid decompressing inner ebullition and HPLC finger print chromatogram [J]. *Sci Technol Food Ind*, 34(16): 105-113. [曾淼洋, 韦藤幼, 童张法, 2013. 加酸减压内部沸腾法提取氯化两面针碱及其指纹图谱评价 [J]. *食品工业科技*, 34(16): 105-113.]
- ZHAO S, MU YN, JIANG L, et al, 2015. Single-factor optimization for extraction process of Radix *Zanthoxyli* [J]. *World Chin Med*, 10(11): 1777-1779. [赵森, 慕杨娜, 姜黎, 等, 2015. 单因素法优化两面针提取工艺 [J]. *世界中医药*, 10(11): 1777-1779.]
- ZHAO Z, CHEN H, YANG N, et al, 2017. Research progress on total synthesis and activity of nitidine [J]. *J Pharm Pra*, 35(2): 102-107. [赵增, 陈浩, 杨鸟, 等, 2017. 两面针碱全合成及活性研究进展 [J]. *药学实践杂志*, 35(2): 102-107.]
- ZHAI H, HU S, LIU T, et al, 2016. Nitidine chloride inhibits proliferation and induces apoptosis in colorectal cancer cells by suppressing the ERK signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 13(3): 2536-2542.
- ZHANG Y, LUO Z, WANG D, et al, 2014. Phytochemical profiles and antioxidant and antimicrobial activities of the leaves of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. *Sci World J*, 2014(5): 181072-181085.