

## 红花叶中 1 个新的生物碱类化合物

张东博<sup>1</sup>, 孙琛<sup>1</sup>, 刘红波<sup>1</sup>, 张严磊<sup>1</sup>, 李世映<sup>1</sup>, 王明耿<sup>2</sup>, 任振丽<sup>2</sup>, 宋忠兴<sup>1</sup>, 唐志书<sup>1\*</sup>

1. 陕西中医药大学/陕西省中药资源产业化协同创新中心/陕西省中药基础与新药研究重点实验室/陕西省风湿与肿瘤类中药制剂工程技术研究中心, 陕西 咸阳 712083
2. 山东步长制药股份有限公司, 山东 菏泽 274000

**摘要:** 目的 对红花 *Carthamus tinctorius* 叶的生物碱类化学成分进行研究。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20、MCI 以及半制备 HPLC 等色谱方法进行分离纯化, 根据理化性质和现代波谱学技术鉴定化合物的结构。结果 从红花叶的甲醇提取物中分离得到 2 个  $\beta$ -卡波林生物碱, 分别鉴定为 4,9-二甲氧基-1-乙基- $\beta$ -卡波林 (1) 和 4-甲氧基-1-乙基- $\beta$ -卡波林 (2), 其中化合物 1 为新化合物。化合物 1 和 2 均对人源肝癌细胞 HepG2 具有细胞毒活性, 半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 值分别为  $(15.20 \pm 0.58) \mu\text{mol/L}$  和  $(17.40 \pm 0.33) \mu\text{mol/L}$ 。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为红花碱 A。化合物 1 和 2 为首次从该属植物中分离得到, 且均具有细胞毒活性。

**关键词:** 红花; 红花碱 A; 4-甲氧基-1-乙基- $\beta$ -卡波林;  $\beta$ -卡波林生物碱; 细胞毒活性

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)01-0022-03

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.01.005

## A new alkaloid isolated from leaves of *Carthamus tinctorius*

ZHANG Dong-bo<sup>1</sup>, SUN Chen<sup>1</sup>, LIU Hong-bo<sup>1</sup>, ZHANG Yan-lei<sup>1</sup>, LI Shi-ying<sup>1</sup>, WANG Ming-geng<sup>2</sup>, REN Zhen-li<sup>2</sup>, SONG Zhong-xing<sup>1</sup>, TANG Zhi-shu<sup>1</sup>

1. Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resource Industrialization, Shaanxi Key Laboratory of New Drugs and Chinese Medicine Foundation Research, Shaanxi Rheumatism and Tumor Center of TCM Engineering Technology Research, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China
2. Shangdong Buchang Pharmaceuticals Co., Ltd., Heze 274000, China

**Abstract: Objective** To study the alkaloids from leaves of *Carthamus tinctorius*. **Methods** The alkaloids were isolated and purified by silica gel, MCI, Sephadex LH-20 column chromatographies, and semi-preparative HPLC, and their structures were elucidated by physical and spectroscopic analysis. **Results** A new  $\beta$ -carboline alkaloid, 4,9-dimethoxy-1-ethyl- $\beta$ -carboline (1) along with one known analogue 4-methoxy-1-ethyl- $\beta$ -carboline (2), were isolated from the leaves of *C. tinctorius*. Compounds 1 and 2 showed the cytotoxicity against HepG2 cell lines with  $IC_{50}$  values of  $(15.2 \pm 0.58) \mu\text{mol/L}$  and  $(17.4 \pm 0.33) \mu\text{mol/L}$ , respectively. **Conclusion** Compounds 1 and 2 are firstly obtained from *Carthamus* genus, and compound 1 is a new compound named carthine A. Both compounds 1 and 2 exhibited cytotoxicity against HepG2 cell lines.

**Key words:** *Carthamus tinctorius* L.; carthine A; 4-methoxy-1-ethyl- $\beta$ -carboline;  $\beta$ -carboline alkaloids; cytotoxicity

红花 *Carthamus tinctorius* L. 为菊科红花属植物, 始载于《开宝本草》, 又名红蓝花、刺红花, 主产于我国新疆、河南、浙江、云南等地<sup>[1]</sup>。花入药, 用于治疗中风、冠心病、心绞痛、高血压、血脉闭塞、跌打损伤和妇科疾病等<sup>[2]</sup>。植物化学研究表明

红花富含多种化学成分, 迄今已分离鉴定 200 多个化合物, 包括醌式查耳酮苷、黄酮、香豆素、甾体、木脂素、脂肪酸、多糖、聚乙炔及生物碱等。现代药理学研究表明, 红花具有抗凝血、抗氧化、抗肿瘤、抗酪氨酸酶、增加冠状动脉阻力、增加心肌营

收稿日期: 2018-09-30

基金项目: 陕西省自然科学基金研究计划 (2017SF-365); 陕西省教育厅自然科学专项项目 (16JK1196)

作者简介: 张东博 (1982—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为中药及天然产物中新颖生物活性成分的发现。E-mail: symensu@163.com

\*通信作者 唐志书 (1972—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事中药高新制备技术应用研究及中药资源开发与综合利用研究。  
E-mail: tzs6565@163.com

养性、舒张血管、调节免疫及神经保护等作用<sup>[3-8]</sup>。目前,红花的相关研究主要集中在黄酮类化学成分,而对生物碱类化学成分的研究鲜有报道,为进一步开发利用该植物资源,挖掘其活性成分,本课题组对红花叶中的生物碱类化学成分进行研究,从中分离得到 2 个生物碱单体(图 1),根据理化性质和波谱学分析依次鉴定其结构为 4,9-二甲氧基-1-乙基- $\beta$ -卡波林(4,9-dimethoxy-1-ethyl- $\beta$ -carboline, **1**)和 4-甲氧基-1-乙基- $\beta$ -卡波林(4-methoxy-1-ethyl- $\beta$ -carboline, **2**)。化合物 **1** 和 **2** 为首次从该属植物中分离得到,其中化合物 **1** 为新化合物,命名为红花碱 A。

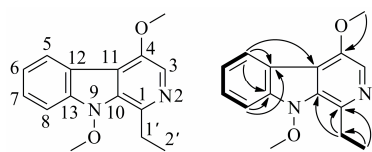


图 1 化合物 **1** 的结构及关键 HMBC (↷) 和 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY (—) 相关

Fig. 1 Structure of compound **1** and key HMBC (↷) and <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY (—) correlations

## 1 材料与仪器

Varian Mercury plus-400 和 Varian Mercury plus-500 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司); 1525EF Waters 高效液相色谱仪、HPLC 半制备柱(250 mm×10 mm, 5  $\mu$ m), 美国 Waters 公司; HP5988A GCMS spectrometer 型质谱仪(美国 Hewlett Packard 公司); 薄层色谱硅胶 GF<sub>254</sub> 和柱色谱硅胶(200~300 目), 青岛海洋化工厂; MCI 树脂(日本 Mitsubishi 公司); Sephadex LH-20 凝胶(美国 Amersham Biosciences 公司); 其他试剂均为分析或色谱纯。

红花的叶于 2016 年 9 月采自新疆维吾尔自治区铁厂沟镇, 植物样品由陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为红花 *Carthamus tinctorius* L. 的叶, 植物标本(20160905)保存于陕西省中药资源产业化协同创新中心标本室。

## 2 提取与分离

干燥红花的叶 2.9 kg, 粉碎后用工业甲醇于室温下冷浸提取 5 次, 每次冷浸 5 d。提取液减压浓缩得浸膏 120 g。将提取浸膏分散于蒸馏水中, 用 2% 的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液调 pH 2~3, 用等体积的醋酸乙酯萃取 4 次后, 水相用 NaOH 水溶液调至 pH 10~11, 用等体积的氯仿萃取 4 次, 回收氯仿后得到生物碱总浸膏 0.8 g。将生物碱总浸膏(0.8 g)通过 MCI

凝胶柱, 用水-甲醇(1:0→0:1)梯度洗脱, 得到共 6 个流分(Fr. 1~6)。Fr. 5(0.4 g)经反复 Sephadex LH-20(氯仿-甲醇)柱色谱分离纯化得到流分 Fr. 5A~5D; 流分 Fr. 5B(0.1 g)经半制备高效液相色谱, 以乙腈-水(45:55)为流动相, 得到化合物 **1**(3.3 mg, *t<sub>R</sub>*=38.8 min)和 **2**(0.9 mg, *t<sub>R</sub>*=16.1 min)。

## 3 结构鉴定

化合物 **1**: 浅黄色油状物, 易溶于氯仿、甲醇。碘化铋钾反应阳性, 提示该化合物为生物碱。HR-ESI-MS *m/z*: 257.128 1 [M+H]<sup>+</sup>(计算值 257.128 5)。结合 <sup>13</sup>C-NMR 确定化合物 **1** 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 不饱和度为 9。IR 光谱显示该化合物结构中含有甲基(2 928、2 961 cm<sup>-1</sup>)、次甲基(2 859 cm<sup>-1</sup>)和苯环(1 619、1 495 cm<sup>-1</sup>)。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 谱中(表 1)显示该化合物含有 5 个芳香质子  $\delta_{\text{H}}$  8.29(1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.57(2H, overlapped), 7.31(1H, ddd, *J*=8.0, 5.6, 2.0 Hz) 和 8.06(1H, s); 2 个甲氧基  $\delta_{\text{H}}$  4.12(1H, s) 和 4.07(1H, s); 1 个乙基  $\delta_{\text{H}}$  3.28(2H, q, *J*=8.0 Hz) 和 1.44(3H, t, *J*=8.0 Hz); <sup>13</sup>C-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 谱提示该化合物有 15 个碳信号, 其中包括 11 个芳香碳  $\delta_{\text{C}}$  150.4, 139.9, 137.8, 131.9, 127.7, 124.5, 121.6, 121.1, 117.8, 115.8

表 1 化合物 **1** 的 <sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 数据(400/100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

Table 1 <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR data(400/100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) of compound **1**

碳位	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	139.9 (s)	
3	121.6 (d)	8.06 (s)
4	150.4 (s)	
5	124.5 (d)	8.29 (d, <i>J</i> =8.0 Hz)
6	121.1 (d)	7.31 (ddd, <i>J</i> =8.0, 5.6, 2.0 Hz)
7	127.7 (d)	7.57 (overlapped)
8	108.8 (d)	7.57 (overlapped)
10	131.9 (s)	
11	115.8 (s)	
12	117.8 (s)	
13	137.8 (s)	
1'	26.6 (t)	3.28 (q, <i>J</i> =8.0 Hz)
2'	13.8 (q)	1.44 (t, <i>J</i> =8.0 Hz)
N-OCH <sub>3</sub>	64.2 (q)	4.07 (s)
4-OCH <sub>3</sub>	56.1 (q)	4.12 (s)

和 108.8; 3 个甲基碳  $\delta_{\text{C}}$  64.2, 56.1 和 13.8; 1 个亚甲基碳  $\delta_{\text{C}}$  26.6。以上数据提示该化合物结构中含有  $\beta$ -卡波林生物碱碳骨架<sup>[9]</sup>。将以上 NMR 数据与文献报道对照<sup>[10]</sup>, 发现化合物 **1** 与 4,9-dimethoxy-1-vinyl- $\beta$ -carboline 极为相似, 提示两者拥有相同的骨架结构。不同之处在于化合物 **1** 中多了 1 个乙基信号 [ $\delta_{\text{C}}$  26.6,  $\delta_{\text{H}}$  3.28 (2H, q,  $J = 8.0$  Hz)] 和 [ $\delta_{\text{C}}$  13.8,  $\delta_{\text{H}}$  1.44 (3H, t,  $J = 8.0$  Hz)], 而少了 1 个乙烯基信号 [ $\delta_{\text{C}}$  131.2,  $\delta_{\text{H}}$  7.65 (1H, dd,  $J = 17.2, 10.8$  Hz)] 和 [( $\delta_{\text{C}}$  117.1,  $\delta_{\text{H}}$  6.42 (1H, dd,  $J = 17.2, 2.0$  Hz), 5.53 (1H, dd,  $J = 10.8, 2.0$  Hz)], 这提示化合物 **1** 是化合物 4,9-dimethoxy-1-vinyl- $\beta$ -carboline 中的乙烯基被乙基取代的产物。这一结论也被化合物 **1** 的分子式 ( $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ ) 及其二维谱所证实, 尤其是  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 谱中质子信号在  $\delta_{\text{H}}$  3.28 (H-1') 与  $\delta_{\text{H}}$  1.44 (H-2') 的交叉峰。HMBC 图谱 (图 1) 中, H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  3.28) 与 C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  139.9) 和 C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  131.9) 相关; H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  1.44) 与 C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  139.9) 相关, 说明乙基侧链连接在 C-1 位。综上所述, 最终确定化合物 **1** 的结构为 4,9-二甲氧基-1-乙基- $\beta$ -卡波林经检索确定其为 1 个新的  $\beta$ -卡波林生物碱类化合物, 命名为红花碱 A。

化合物 **2**: 白色粉末, 易溶于氯仿、甲醇, 碘化铋钾反应阳性;  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ , EI-MS  $m/z$ : 226  $[\text{M}]^+$ ;  $^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.33 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5), 8.0 (1H, s, H-3), 7.51 (2H, overlapped, H-7, 8), 7.29 (1H, m, H-6), 4.12 (3H, s, 4- $\text{OCH}_3$ ), 3.10 (2H, q,  $J = 7.5$  Hz, H-1'), 1.45 (3H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-2');  $^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 139.8 (C-1), 124.3 (C-3), 150.9 (C-4), 120.7 (C-5), 127.4 (C-6), 120.4 (C-7), 111.0 (C-8), 139.3 (C-10), 118.4 (C-11), 121.6 (C-12), 134.6 (C-13), 26.6 (C-1'), 12.7 (C-2'), 56.1 ( $\text{OCH}_3$ -4)。以上数据与文献报道一致<sup>[11]</sup>, 故鉴定化合物 **2** 为 4-甲氧基-1-乙基- $\beta$ -卡波林。

### 3 细胞毒性

采用 MTT 法<sup>[12]</sup>, 以 sorafenib 为阳性对照, 采用人源肝癌 HepG2 细胞, 对化合物 **1** 和 **2** 进行细胞毒性筛选。Sorafenib 对 HepG2 细胞的半数抑制浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 值为 ( $8.50 \pm 0.27$ )  $\mu\text{mol/L}$ , 化合物 **1**

和 **2** 的  $\text{IC}_{50}$  值分别为 ( $15.20 \pm 0.58$ )  $\mu\text{mol/L}$  和 ( $17.40 \pm 0.33$ )  $\mu\text{mol/L}$ , 结果表明化合物 **1** 和 **2** 均对 HepG2 细胞具有细胞毒性。

### 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] 刘娟, 李建伟, 乔玉峰, 等. 红花临床应用研究进展 [J]. 医学研究与教育, 2015, 32(3): 91-94.
- [3] Asgarpanah J, Kazemivash N. Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. [J]. *Chin J Integr Med*, 2013, 19(2): 153-159.
- [4] Lou L L, Liu S, Yan Z Y, *et al.* Tetrahydro- $\beta$ -carboline alkaloids from *Carthamus tinctorius* L. with tyrosinase inhibitory activity [J]. *Phytochem Lett*, 2017, 22: 107-112.
- [5] Zhou F R, Zhao M B, Tu P F. Simultaneous determination of four nucleosides in *Carthamus tinctorius* L. and Safflower injection using highperformance liquid chromatography [J]. *J Chin Pharmaceut Sci*, 2009, 18(4): 326-330.
- [6] Liu Y, Xue J, Han J, *et al.* Polyacetylenes from the florets of *Carthamus tinctorius* and their cytotoxicity [J]. *Phytochem Lett*, 2018, 23: 168-171.
- [7] 肖艳华, 崔猛, 李艳艳. 红花的化学成分 [J]. 武汉工程大学学报, 2014, 36(3): 15-17.
- [8] Fan L, Zhao H Y, Xu M, *et al.* Qualitative evaluation and quantitative determination of 10 major active components in *Carthamus tinctorius* L. by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2063-2070.
- [9] Ohmoto T, Koike K. Studies on the constituents of *Picrasma quassioides* Bennet. II. On the alkaloidal constituents [J]. *Chem Pharm Bull*, 1983, 31(9): 3198-3204.
- [10] Lee J J, Oh C H, Yang J H, *et al.* Cytotoxic alkaloids from the wood of *Picrasma quassioides* [J]. *J Korean Soc Appl Biol Chem*, 2009, 52(6): 663-667.
- [11] 陈猛, 范华英, 戴胜军, 等. 苦木生物碱的化学研究 [J]. 中草药, 2007, 38(6): 807-810.
- [12] Hu Q F, Zhou B, Ye Y Q, *et al.* Cytotoxic deoxybenzoins and diphenylethylenes from *Arundina graminifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(10): 1854-1859.