

傣药香面叶茎皮中 1 个新 8-O-4'-木脂素及其细胞毒活性

娄洁, 李丽梅, 刘贵有, 王月德, 董伟, 周堃, 李银科, 胡秋芬, 叶艳青*

云南民族大学 民族药资源化学国家民委教育部重点实验室, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 研究了傣药香面叶 *Lindera caudata* 茎皮的化学成分。方法 运用硅胶、凝胶、MCI-gel 树脂及 RP-HPLC 等多种色谱技术进行分离纯化, 并根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构, 还用 MTT 法测定了化合物对 NB4、A549、SHSY5Y、PC3 和 MCF7 5 株人癌细胞株的细胞毒活性。结果 从香面叶茎皮中分离鉴定了 1 个新的 8-O-4'-木脂素类化合物, 命名为香面叶木脂素 A (1); 其对 NB4 和 SHSY5Y 细胞的 IC₅₀ 值分别为 4.2 和 5.0 μmol/L。结论 化合物 1 为新化合物, 其具有显著的细胞毒活性。

关键词: 傣药; 香面叶; 8-O-4'-木脂素; 香面叶木脂素 A; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)07-0955-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.07.003

A new 8-O-4'-neolignan from stem barks of *Lindera caudata* and its cytotoxicity

LOU Jie, LI Li-mei, LIU Gui-you, WANG Yue-de, DONG Wei, ZHOU Kun, LI Yin-ke, HU Qiu-fen, YE Yan-qing

Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in the stem barks of *Lindera caudata*. **Methods** The chemical constituents from the stem barks of *L. caudata* were isolated by column chromatographic methods of silica gel, MCI-Gel resin, Sephadex LH-20, and high performance liquid chromatography. The structures were elucidated by spectroscopic methods, including extensive 1D and 2D NMR techniques. The cytotoxicity of this compound for NB4, A549, SHSY5Y, PC3, and MCF7 cells line was also observed by using the MTT method. **Results** A 8-O-4'-neolignan, caudatalignan A (1) was isolated from this plants. **Conclusion** Compound 1 is a new compound and displays the cytotoxicity against NB4 and SHSY5Y cells with IC₅₀ values of 4.2 and 5.0 μmol/L, respectively.

Key words: Dai medicine; *Lindera caudata* (Nees) Hook. f.; 8-O-4'-neolignan; caudatalignan A; cytotoxicity

傣药香面叶 *Lindera caudata* (Nees) Hook. f., 别名毛叶三条筋、黄脉山胡椒、朴香根、芽三英 (傣名), 为樟科 (Lauraceae) 山胡椒属 *Lindera* Thunb. 植物, 是云南西双版纳州傣族常用的植物药。据《中药大辞典》报道, 该植物具有止血生肌、理气止痛的作用, 可用于治疗跌打扭伤、外伤瘀肿、出血、胸痛咳嗽^[1]。目前对该植物化学成分的研究报道较少; 目前仅 Ye 等^[2]报道该植物中有异香豆素类化合物, 以及彭霞等^[3]从中分离到十八烷醇和 4,5-dihydroblumenol A。为了深入了解香面叶茎皮化学成分, 从中发现药用价值的先导性化合物, 本实验

对采于云南德宏的香面叶茎皮化学成分进行了研究, 并从中分离到 1 个新 8-O-4'-木脂素类化合物, 为一新化合物, 命名为香面叶木脂素 A; MTT 测试显示该化合物对 NB4 和 SHSY5Y 细胞具有明显的细胞毒活性。

1 材料和仪器

Horiba SEPA-300 型数字式旋光仪 (日本 Hofiba 公司); UV-2401A 紫外光谱仪 (日本岛津公司); JASCO J-810 圆二色光谱仪 (日本分光公司); Bio-Rad FTS-185 傅里叶变换红外光谱仪 (美国伯乐 BIO-RAD 公司); DRX-500 核磁共振仪 (瑞士

收稿日期: 2015-01-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21362044, 21032085); 云南省高校科技创新团队 (IRTSTYN 2014-11); 云南民族大学-化学与生物技术学院 2013 年大学生 SRT 创新性实验项目 (2013HXSRTD07); 云南民族大学研究生创新项目 (2014YJY84)

作者简介: 娄洁 (1990—), 女, 云南红河人, 硕士在读, 从事中药及天然药物活性成分研究。

*通信作者 叶艳青, 女, 博士, 教授, 硕士生导师。Tel: (086)68329045 E-mail: yey-qing@163.com

布鲁克公司);半制备 HPLC 分析仪器为岛津 LC-8A 型高效液相色谱仪, 色谱柱为安捷伦公司 Zorbax PrepHT GF (250 mm×21.2 mm, 7 μm); 80~100、200~300 目硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 反相填充材料 RP-18 (40~63 μm), Merck 公司产品; MCI 填充材料为 MCI-gel CHP-20P (75~150 μm, 日本三菱公司生产); 凝胶为 Sephadex LH-20, 美国 CE 公司产品。

本实验样品于 2011 年 9 月采自德宏傣族景颇族自治州梁河县, 标本经云南傣药研究所黄青芳医师鉴定为樟科山胡椒属植物香面叶 *Lindera caudata* (Nees) Hook. f. 的茎皮。

2 提取与分离

香面叶茎皮干燥品 2.5 kg, 粉碎, 过 30 目筛, 用 90%乙醇水溶液超声提取 3 次 (每次加入溶剂 5 L, 提取时间 4 h), 合并提取液并减压浓缩到小体积, 浓缩液用醋酸乙酯萃取 2 次 (每次用醋酸乙酯 2 L), 回收醋酸乙酯得到萃取物 85.2 g。萃取产物用 MCI 脱色, 然后经硅胶柱色谱分离, 以氯仿-丙酮 (1:0、9:1、8:2、7:3、6:4、1:1、4:6) 洗脱机分为 7 个部位。其中三氯甲烷-丙酮 6:4 部分 (11.2 g) 再次经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (5:1、2:1、1:1、1:2、0:1) 梯度洗脱。石油醚-醋酸乙酯 (1:2) 洗脱部分 (1.26 g), 以 38%甲醇为流动相 (体积流量 12 mL/min), 用 Zorbax PrepHT GF 制备柱分离, 收集 $t_R=36.5$ min 的组分, 得到化合物 1 粗品; 该粗品再次用甲醇溶解, 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化 (甲醇为流动相) 得到化合物 1 (11.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色无定形固体。HR-ESI-MS m/z : 447.126 1 $[M+Na]^+$ (计算值 447.126 7, $C_{20}H_{24}NaO_{10}$), 确定分子式为 $C_{20}H_{24}O_{10}$ 。 $[\alpha]_D^{24.6} +35.6^\circ$ (c 0.25, MeOH); CD (c 0.05, MeOH): $\Delta\epsilon_{218\text{ nm}} -2.25$, $\Delta\epsilon_{240\text{ nm}} +18.2$, $\Delta\epsilon_{255\text{ nm}} -7.63$, $\Delta\epsilon_{272\text{ nm}} -5.87$; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 330 (3.26), 285 (3.68), 215 (4.08), 紫外光谱在 330、285 nm 有强吸收峰, 说明化合物中有芳环结构; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 476, 2 968, 2 852, 1 716, 1 612, 1 547, 1 473, 1 463, 1 256, 1 174, 987, 863, 红外光谱显示化合物中具有羟基 (3 476 cm^{-1})、羰基 (1 716 cm^{-1}) 和芳环信号 (1 612, 1 547, 1 473 cm^{-1})。由 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, C_5D_5N)、 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, C_5D_5N) 和 DEPT 数据 (表 1) 可知, 化合物中有

表 1 化合物 1 的氢谱和碳谱数据

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ data of compound 1

碳位	δ_C	δ_H
1	133.1 s	
2	106.9 d	6.83 (1H, s)
3	151.6 s	
4	137.6 s	
5	153.2 s	
6	104.1 d	6.71 (1H, s),
7	73.5 d	5.62 (1H, d, $J=7.2$ Hz)
8	86.0 d	5.30 (1H, m)
9	62.1 t	4.19 (1H, m), 4.50 (1H, d, $J=11.4$ Hz)
1'	131.9 s	
2',6'	108.3 d	6.94 (2H, s)
3',5'	148.2 s	
4'	139.3 s	
7'	198.5 s	
8'	41.8 t	3.41 (2H, t, $J=6.2$ Hz)
9'	59.0 t	4.39 (2H, t, $J=6.2$ Hz)
4-OMe	60.9 q	3.84 (3H, s)
5-OMe	55.9 q	3.80 (3H, s)
Ar-OH-4		11.33 (1H, brs)
Ar-OH-3',5'		10.72 (2H, brs)

20 个碳 (9 个季碳、6 个叔碳、3 个仲碳和 2 个伯碳) 和 24 个氢信号, 包括 1 个 1,3,4,5-四取代苯环 [δ_C 133.1, 106.9, 151.6, 137.6, 153.2, 104.1; δ_H 6.83 (1H, s), 6.71 (1H, s)]、1 个对称的 1',3',4',5'-四取代苯环 [δ_C 131.9, 108.3, 148.2, 139.3; δ_H 6.94 (2H, s)]、1 个 1,2-二芳基甘油结构片段^[4] [δ_C 73.5, 86.0, 62.1; δ_H 5.62 (1H, d, $J=7.2$ Hz), 5.30 (1H, m), 4.19 (1H, m), 4.50 (1H, d, $J=11.4$ Hz)]、1 个 3-羟基-1-苯基-1-丙酮结构片段 [δ_C 198.5, 41.8, 59.0; δ_H 3.41 (2H, t, $J=6.2$ Hz), 4.39 (2H, t, $J=6.2$ Hz)]^[4]、2 个甲氧基 [δ_C 60.9, 55.9; δ_H 3.84 (3H, s), 3.80 (3H, s)] 以及 3 个酚羟基 [δ_H 11.33 (1H, brs), 10.72 (2H, brs)]。同时, H-7/H-8、H-8/H-9 和 H-8'/H-9' 存在 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY 相关, 进一步证实了 1,2-二芳基甘油和 3-羟基-1-苯基-1-丙酮结构片段的存在。在 HMBC 图谱中, H-7 (δ_H 5.62) 与 C-1 (δ_C 133.1)、C-2 (δ_C 106.9)、C-6 (δ_C 104.1), H-8 (δ_H 5.30) 与 C-1 (δ_C 133.1) 的 HMBC 相关 (图 1) 可推测甘油片段连接在 C-1 位; H-8' (δ_H 3.41) 与 C-1' (δ_C 131.9) 的 HMBC 相关证实 3-羟基-1-丙酮结构片段连接在 C-1' 位; 根据 H-8 (δ_H 5.30) 与 C-4' (δ_C 139.3) 的 HMBC 相关, 推测 C-8 通过氧原子和 C-4' 相连接。根据上述核磁共振信号和文献

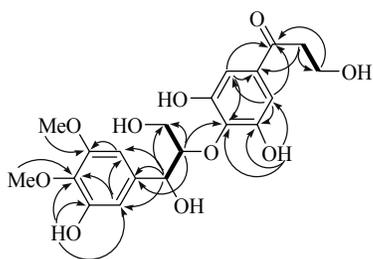


图1 化合物1的¹H-¹H COSY (—) 和 HMBC (---) 相关
Fig. 1 ¹H-¹H COSY (—) and HMBC (---) correlations of compound 1

报道^[4]对比,证实了化合物1为8-O-4'-新异木脂素类化合物。根据2个甲氧基信号(δ_{H} 3.84, 3.80)分别与C-4(δ_{C} 137.6)、C-5(δ_{C} 153.2)有HMBC相关,证实2个甲氧基分别取代在C-4和C-5位;1个酚羟基信号(δ_{H} 11.33)与C-2(δ_{C} 106.9)、C-3(δ_{C} 151.6)、C-4(δ_{C} 137.6)有HMBC相关,证实该酚羟基取代在C-3位,另外2个酚羟基信号(δ_{H} 10.72)与C-4'(δ_{C} 139.3)、C-3', 5'(δ_{C} 148.2)、C-2', 6'(δ_{C} 108.3)有HMBC相关,证实这二个酚羟基分别取代在C-3', 5'位,至此化合物1的平面结构得到确认(图2)。

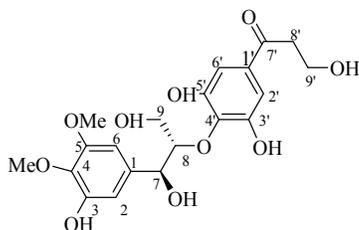


图2 化合物1的结构

Fig. 2 Structure of compound 1

化合物1中有2个手性碳C-7和C-8,而H-7和H-8的耦合常数为 $J = 7.1$ Hz,其耦合常数值和报道过的同类 $thro$ 式化合物^[5]一致,但和 $erythro$ 异构体^[6-7]差别很大,由此确定其相对构型为 $thro$ 式。化合物1的CD谱信号在240 nm处有正的Cotton效应,并且H-7和H-8, H-8和H-2, H-8和H-6之间存在明显的ROESY相关,证实化合物的绝对构型为 $7S,8S$ 。至此,化合物1的结构得到确认,为1-(4-((1S,2S)-1,3-二羟基-1-(3-羟基-4,5-二甲氧基苯

基)丙烷-2-基氧基)-3,5-二羟基苯基)-3-羟基丙酮,并命名为香面叶木脂素A(caudatalignan A)。根据美国化学文摘(CA)光盘检索,该化合物为香面叶中首次报道的新异木脂素类化合物,命名为香面叶木脂素A。

4 细胞毒活性研究

参照文献报道^[8],采用MTT法测定细胞毒活性,以紫杉醇为阳性对照,所测试细胞株为急性早幼粒细胞白血病细胞(NB4)、人肺腺癌细胞(A549)、人神经母细胞瘤细胞(SHSY5Y)、人前列腺癌细胞(PC3)和人乳腺癌细胞(MCF7),均购于上海拜力生物科技有限公司。结果表明,化合物1对所选的5株细胞的 IC_{50} 值均小于 $10 \mu\text{mol/L}$,其中对NB4和SHSY5Y细胞具有较高的细胞毒活性,其 IC_{50} 值分别为 4.2 、 $5.0 \mu\text{mol/L}$ 。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 科学技术出版社, 1986.
- [2] Ye Y Q, Xia C F, Yang J X, et al. Isocoumarins from the bark of *Lindera caudata* [J]. *Heterocycles*, 2014, 89(10): 2369-2374.
- [3] 彭霞, 姜明辉, 台海川. 傣药毛叶三条筋化学成分研究[J]. 民族医药杂志, 2011(11): 36-37.
- [4] Chen Y K, Li X S, Yang G Y, et al. Phenolic compounds from *Nicotiana tabacum* and their biological activities [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2012, 14(5): 450-456.
- [5] Cavalcante S H, Yoshida M, Gottlieb O R. Neolignans from *Virola carinata* fruit [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(5): 1051-1055.
- [6] Fukagawa N, Ishizu A. Photoreaction of phenacyl aryl ether type lignols [J]. *J Wood Chem Technol*, 1991, 11(2): 263-289.
- [7] Yoshikawa M, Morikawa T, Xu F, et al. (7R,8S) and (7S,8R) 8-5' linked neolignans from Egyptian herbal medicine *Anastatica Hierochuntica* and inhibitory activities of lignans on nitric oxide production [J]. *Heterocycles*, 2003, 60(8): 787-1792.
- [8] Gao X M, Wang R R, Niu D Y, et al. Bioactive dibenzocyclooctadiene dibenzocyclooctadiene lignans from the stems of *Schisandra neglecta* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(6): 1052-1057.