

补骨脂中 1 个二氢异黄酮类新化合物及其细胞毒活性

董 伟, 王月德, 周 堃, 刘贵有, 李丽梅, 娄 洁, 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 对中药补骨脂 *Psoralea corylifolia* 中的化学成分进行研究, 以期发现新的活性化合物。方法 运用硅胶、凝胶、MCI-GEL 树脂及 RP-HPLC 等多种色谱技术对补骨脂的化学成分进行分离纯化, 并根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从补骨脂 95%乙醇提取物分离鉴定了 1 个二氢异黄酮类化合物 3R-6-羟基-8-羟甲基-4',7-二甲氧基-二氢异黄酮 (1)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为补骨脂异黄酮 A (corylisoflavone A); 表现出一定的细胞毒活性, 其中对急性早幼粒细胞白血病细胞 (NB4)、人神经母细胞瘤细胞 (SH-SY5Y)、人前列腺癌细胞 (PC3)、人肺腺癌细胞 (A549) 和人乳腺癌细胞 (MCF7) 的 IC_{50} 值分别为 12.6、5.3、15.5、4.8 和 11.2 $\mu\text{mol/L}$ 。

关键词: 补骨脂; 豆科; 二氢异黄酮; 细胞毒活性; 补骨脂异黄酮 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)15-2206-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.15.004

A new compound of isoflavanones from fruits of *Psoralea corylifolia* and its cytotoxicity

DONG Wei, WANG Yue-de, ZHOU Kun, LIU Gui-you, LI Li-mei, LOU Jie, 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 For the purpose of finding new bioactive agents from Chinese herbal medicine, the chemical study on *Psoralea corylifolia* was carried out. **Methods** The chemical constituents in the fruits of *P. corylifolia* were isolated by silica gel, MCI-GEL resin, Sephadex LH-20 column chromatography, and high performance liquid chromatography (HPLC) methods. The structures of compounds were elucidated by spectroscopic methods, including extensive 1D and 2D NMR techniques. **Results** A new isoflavanone, 3R-6-hydroxy-8-(hydroxymethyl)-4',7-dimethoxy-dihydrogenisoflavone (1) was isolated from the fruit of *P. corylifolia*. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named corylisoflavone A, which displays the cytotoxicity against NB4, SH-SY5Y, PC3, A549, and MCF7 cells with IC_{50} values of 12.6, 5.3, 15.5, 4.8, and 11.2 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Key words: *Psoralea corylifolia* L.; Leguminosae; isoflavanone; cytotoxicity; corylisoflavone A

补骨脂又名破故纸, 为豆科 (Leguminosae) 植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实^[1]。该植物分布于四川、云南、河南、安徽、山西、陕西等地, 资源丰富^[2]。自古以来其就作为温肾助阳的常用中药, 有补肾壮阳、温脾止泻之功效, 为《中国药典》收载的中药。现代药理研究表明该药有扩张冠状动脉、抗菌、抗衰老的作用, 对平滑肌有双向调节作用, 还有雌激素样作用以及抗肿瘤等药理活性^[3]。补骨脂含有多种活性成分, 如香豆素类 (主要为呋喃香豆素类、补骨脂素 psoralen 和异补骨脂素 isopsoralen 等); 拟雌内酯类 (如补骨脂定

psoralidin 等); 黄酮类 (主要有补骨脂甲素 corylifolin、补骨脂乙素 corylifolinin、补骨脂异黄酮 corylin、补骨脂查耳酮 bavachalcone 等); 酚萜类 (如补骨脂酚 bakuchiol) 等^[4]。为充分利用我国丰富的资源, 进一步寻找新的活性天然产物化学成分; 本实验对补骨脂果实的化学成分进行了研究, 并从中分离得到 1 个具有细胞毒活性的二氢异黄酮类新化合物, 3R-6-羟基-8-羟甲基-4',7-二甲氧基-二氢异黄酮 (1), 命名为补骨脂异黄酮 A。

1 材料与材料

UV-2401A 紫外光谱仪 (日本岛津公司); Jasco

收稿日期: 2015-03-18

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资助项目 (IRTSTYN 2014-11)

作者简介: 董 伟 (1991—), 男, 吉林延吉人, 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, 教授, 硕士生导师。Tel: (086)68329045 E-mail: huqiufena@aliyun.com

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 高分辨核磁共振仪 (瑞士布鲁克公司); 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) 和安捷伦 Zorbax C₁₈ (250 mm×9.4 mm, 5 μm)。

拌样用硅胶 (80~100 目)、柱色谱分离用硅胶 (200~300 目)、GF₂₅₄ (100 mm×100 mm) 薄层硅胶板均为青岛海洋化工厂产品; MCI-gel CHP-20P (75~150 μm) 反相微孔树脂, 日本三菱公司; Sephadex LH-20 凝胶, 美国 GE 公司; 工业用三氯甲烷、丙酮、甲醇、醋酸乙酯、石油醚, 天津化学试剂厂提供; 色谱纯乙腈、四氢呋喃, 美国 Fisher 公司提供; 超纯水, 实验室用美国 GE EDI 超纯水处理器制备。

补骨脂药材 2002 年 9 月购自昆明菊花村药材市场, 产地为云南西双版纳, 经云南中医学院中药学院袁琳博士鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥果实, 标本 (YNMZ0952) 保存于云南民族大学民族药资源化学重点实验室。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。

2 提取与分离

补骨脂成熟的果实 4.5 kg 粉碎到 30 目, 然后用 95% 乙醇提取 4 次; 每次提取乙醇用量为 5.0 L, 超声 4 次 (每次 30 min) 后滤过; 合并 4 次提取液减压浓缩得浸膏 185 g。浸膏选用 MCI 脱色, 然后经硅胶柱色谱, 氯仿-丙酮 (20:1、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5) 洗脱分成 6 个部分。选取氯仿-丙酮 6:4 洗脱部分用 HPLC 进行进一步分离, 采用 Agilent Zorbax PrepHT GF 反相柱, 以 45% 甲醇为流动相, 体积流量为 15 mL/min, 进样量 100 μL, 检测波长为 308 nm, 收集 25.2~26.8 min 流出的组分可得化合物粗品。粗品再次用甲醇溶解, 以甲醇为流动相, 用葡聚糖凝胶柱色谱纯化可得化合物 **1** (12.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 浅黄色胶状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{24.6} -41.6^\circ$ (c 0.25, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210 (4.05), 242 (3.32), 308 (3.20); CD (c 0.2, MeOH) λ_{max} : 248 (+1.58), 346

(+1.22); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 428, 2 947, 2 880, 1 647, 1 610, 1 532, 1 478, 1 368, 1 226, 1 047, 957, 862。

HR-ESI-MS 显示其准分子离子峰为 353.100 1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 353.100 1, $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{NaO}_6$), 结合 ^1H -和 ^{13}C -NMR 确定分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$ 。其红外光谱显示化合物中有羟基 (3 428 cm^{-1})、羰基 (1 647 cm^{-1}) 和芳环 (1 610, 1 532, 1 478 cm^{-1}) 信号, 紫外光谱在 210、242 和 308 nm 有最大吸收也证实化合物中存在芳环结构。化合物的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 谱 (表 1) 显示其含有 18 个碳和 18 个氢, 包括 1 个五取代的苯环 (δ_{C} 117.2 d、142.5 s、155.8 s、124.5 s、149.0 s 和 119.2 s, δ_{H} 7.38 s); 1 个 1,4-二取代苯环 [δ_{C} 129.7 s、131.1 d (2C)、115.2 d (2C) 和 161.5 s; δ_{H} 7.70 (d, $J=8.6$ Hz), δ_{H} 6.86 (d, $J=8.6$ Hz)]; 1 个氧化的亚甲基 [δ_{C} 73.1 t; δ_{H} 4.54 (dd $J=11.2, 6.4$ Hz), 4.74 (t, $J=11.2$ Hz)]; 1 个次甲基 (δ_{C} 47.3 d; δ_{H} 4.22, dd, $J=11.2, 6.4$ Hz); 1 个羟甲基 (δ_{C} 54.0 t; δ_{H} 4.45 s); 2 个甲氧基 (δ_{C} 61.1 q 和 56.0 q; δ_{H} 3.85 s 和 3.81 s); 1 个羰基 (δ_{C} 196.2 s) 信号, 以及 1 个酚羟基 (δ_{H} 10.92 s)。2 个苯环基及化合物中二氢异黄酮类化合物特征信号 (C-2~4) 可初步推测化合物为二氢异黄酮类化合物^[5]。根据 H-2 和 C-9、C-3、C-4、C-1', 以及 H-3 和 C-1'、C-2', C-6'、C-2、C-4、C-10 的 HMBC (图 1) 相关和进一步确定化合物为二氢异黄酮类化合物。进一步分析其 HMBC 相关信号, 根据甲氧基氢 (δ_{H} 3.85 s 和 3.80 s) 分别和 C-7 (δ_{C} 120.7)

表1 化合物**1**的 ^1H -和 ^{13}C -NMR数据 (500/125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)
Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR data of compound **1** (500/125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

碳位	δ_{C}	δ_{H}
2	73.1 t	4.54 (dd, $J=11.2, 6.4$ Hz) 4.74 (t, $J=11.2$ Hz)
3	47.3 d	4.22 (dd, $J=11.2, 6.4$ Hz)
4	196.2 s	
5	117.2 d	7.38 (s)
6	142.5 s	
7	155.8 s	
8	124.5 s	
9	149.0 s	
10	119.2 s	
1'	129.7 s	
2',6'	131.1 d	7.70 (d, $J=8.6$ Hz)
3',5'	115.2 d	6.86 (d, $J=8.6$ Hz)
4'	161.5 s	
1''	54.0 t	4.45 (s)
7-OMe	61.1 q	3.85 (s)
4'-OMe	56.0 q	3.81 (s)
Ar-OH		10.92 (s)

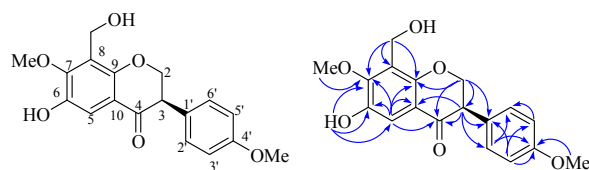


图1 化合物1的结构及主要HMBC相关(↷)

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations (↷) of compound 1

和C-4' (δ_C 161.0) 有HMBC相关可证实2个甲氧基分别取代在C-6和C-4'位, 根据羟甲基氢H-1"和C-7、C-8和C-9有HMBC相关可证实羟甲基取代在C-8位。酚羟基取代在C-6位可由酚羟基信号和C-5、C-6和C-7的HMBC相关得到确认。根据化合物中C-2和C-3的核磁共振数据、化合物的旋光度和CD谱数据和已报道过的同类化合物(3*R*构型的异黄酮旋光度为左旋, CD谱在250和344 nm有正cotton效应; 而3*S*构型的异黄酮旋光度为右旋, CD谱在230和326 nm有负cotton效应)对比^[6-7], 确认化合物中的手性碳C-3为*R*构型。至此, 鉴定化合物1的结构为3*R*-6-羟基-8-羟甲基-4',7-二甲氧基-二氢异黄酮, 为1个新化合物, 命名为补骨脂异黄酮A。

4 细胞毒活性研究

由于有文献报道补骨脂中的黄酮类化合物具有明显的细胞毒活性, 因此对化合物1进行了细胞毒活性筛选。细胞毒活性检测采用改良的MTT法^[8], 测试细胞株为NB4、A549、SHSY5Y、PC3、MCF7。

结果表明, 化合物1对所选的5株细胞的 IC_{50} 值分别为12.6、5.3、15.5、4.8和11.2 $\mu\text{mol/L}$; 以紫杉醇为阳性对照(其对各细胞株的 IC_{50} 值分别为0.03、0.02、0.10、0.10、0.05 $\mu\text{mol/L}$), 化合物1表现出一定的细胞毒活性。

参考文献

- [1] 郭晏华, 罗志冬, 贾天柱. 补骨脂炮制前后补骨脂素和异补骨脂素的变化 [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1652-1654.
- [2] 吴疆, 魏巍, 袁永兵. 补骨脂的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 217-219.
- [3] 刘桦, 白焱晶, 陈亚云, 等. 中药补骨脂化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(12): 1410-1412.
- [4] 曹金一, 刘京晶, 黄文华, 等. 补骨脂药理作用与临床应用研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2008, 24(6): 89-92.
- [5] 江洪波, 田祥琴, 胡小兵, 等. 麦冬中几种二氢高异黄酮的立体结构 [J]. 华西药学杂志, 2006, 21(5): 416-419.
- [6] Hu, Q F, Niu D Y, Zhou B, *et al.* Isoflavanones from the stem of *Cassia siamea* and their anti-tobacco mosaic virus activities [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2013, 34(10): 3013-3016.
- [7] Huang X Z, Bai X S, Liang H, *et al.* Cytotoxic isoflavanones from *Uraria clarkei* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2013, 34(5): 1421-1424.
- [8] 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.