

傣药腊肠树枝中 1 个新的三环生物碱类化合物及其细胞毒活性

王月德, 周 堃, 董 伟, 周 玲, 马航赢, 杨 艳, 邢欢欢, 周 敏, 叶艳青, 胡秋芬*

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 对傣药腊肠树 *Cassia fistula* 枝的化学成分进行研究。方法 运用硅胶、凝胶及 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。结果 从腊肠树枝 95%乙醇提取物中分离鉴定了 1 个新的三环生物碱类化合物, 命名为决明碱 L (1)。生物活性测试中, 其对 NB4、SH-SY5Y、PC3、A549 和 MCF-7 的 IC₅₀ 值分别为 1.8、2.6、3.5、4.2 和 2.3 $\mu\text{mol/L}$ 。结论 化合物 1 为新化合物, 且表现出明显的细胞毒活性。

关键词: 腊肠树; 三环生物碱; 细胞毒活性; 决明碱 L; 傣药

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)10-1650-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.10.003

A new tricyclic alkaloid from twigs of *Cassia fistula* and its cytotoxicity

WANG Yue-de, ZHOU Kun, DONG Wei, ZHOU Ling, MA Hang-ying, YANG Yan, XING Huan-huan, ZHOU Min, YE Yan-qing, HU Qiu-fen

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 twigs of *Cassia fistula*. **Methods** The chemical constituents in the twigs of *C. fistula* were isolated by silica gel, Sephadex LH-20 column chromatography, and RP-HPLC methods. And their structures were elucidated by using various spectroscopic techniques, including extensive 1D and 2D NMR techniques. **Results** A new tricyclic alkaloid, named as cassiarin L (1) was isolated from 95% ethanol extract of the twigs of *C. fistula*. **Conclusion** Compound 1 is a new compound and it displays obvious cytotoxicity against NB4, SH-SY5Y, PC3, A549, and MCF7 cells with IC₅₀ values of 1.8, 2.6, 3.5, 4.2, and 2.3 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

Key words: *Cassia fistula* L.; tricyclic alkaloid; cytotoxicity; cassiarin L; Dai drug

腊肠树 *Cassia fistula* L. 为豆科 (Leguminosae) 苏木亚科决明属木本植物, 学名阿勃勒, 又名波斯皂荚, 在傣族民间被称为锅拢良。该种原产印度、缅甸和斯里兰卡, 在中国南部和西南部各省区均有栽培, 是南方常见的庭园观赏树木。除用于观赏外, 该植物在多方面都有着突出的贡献: 其树皮可做红色染料及制皮革^[1]; 木材可作支柱、桥梁、车辆及农具^[1]等的材料; 而其在民间被用于治疗呕血、瘙痒、白斑、糖尿病、丹毒、皮肤病和骨折等疾病更是突显出了其巨大的药用价值^[2]。

目前国内外学者对腊肠树进行过一些研究, 主要报道的化学成分有色酮、黄酮、萜、甾体、生物碱等类化合物^[3-5]。为了从腊肠树中发现更多的活性

成分, 本实验对产自云南西双版纳的腊肠树进行化学成分研究, 从中分离到 1 个新的三环生物碱类化合物, 命名为决明碱 L (cassiarin L, 1)。初步生物活性测试显示该化合物具有明显的细胞毒活性。

1 仪器与材料

UV-2401A 紫外光谱仪 (日本岛津公司); Bio-Rad FTS-185 傅里叶变换红外光谱仪 (美国伯乐 BIO-RAD 公司); DRX-500 型核磁共振仪 (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)。

柱色谱硅胶 (80~100、200~300 目)、GF₂₅₄

收稿日期: 2015-12-13

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 (IRTSTYN 2014-11)

作者简介: 王月德 (1992—), 男, 硕士在读, 从事中药及天然药物活性成分研究。E-mail: Wyuede@163.com

*通信作者 胡秋芬, 教授, 硕士生导师。Tel: (086)68329045 E-mail: huqiufena@aliyun.com

(100 mm×100 mm) 硅胶板, 均为青岛海洋化工厂生产; 凝胶为 Sephadex LH-20; 薄层色谱法显色, 显色剂为 5% H_2SO_4 乙醇溶液, 喷洒后适当加热即可; 工业用三氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯、石油醚; 色谱纯乙腈、四氢呋喃; 超纯水。

腊肠树于 2012 年 8 月购自云南西双版纳傣医院, 产地为云南西双版纳州磨憨县, 经西双版纳傣医院林艳芳医师鉴定为豆科苏木亚科决明属植物腊肠树 *Cassia fistula* L. 的枝条。

2 提取与分离

取腊肠树的枝条 2.5 kg 晒干, 粉碎后过 30 目筛, 然后用 95% 乙醇水溶液提取 4 次, 每次用量为 3.5 L, 室温浸泡、超声 4 次 (每次 30 min), 滤过, 合并提取液, 用 10 L 3% 酒石酸溶液稀释后用醋酸乙酯萃取。水相用氢氧化钠调节 pH 值为 9.0~10.0 后用醋酸乙酯萃取, 将醋酸乙酯相减压浓缩得浸膏 22.8 g。浸膏用 25 g 粗硅胶 (80~100 目) 拌样, 烘干, 用 150 g 硅胶 (150~200 目) 柱色谱, 三氯甲烷-丙酮 (20:1、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5) 梯度洗脱, 分成 6 个部分。将三氯甲烷-丙酮 7:3 洗脱部分用甲醇溶解, 以甲醇为流动相, 用葡聚糖凝胶柱 Sephadex LH-20 净化后经 HPLC 进一步分离: 采用 Agilent 公司的 Zorbax PrepHT GF (250 mm×21.2 mm, 7 μm) 反相柱, 以 45% 甲醇水溶液为流动相, 体积流量为 15 mL/min, 收集 33.6 min 的色谱峰, 得化合物粗品。粗品再用甲醇溶解, 以 70% 乙腈水溶液为流动相, 体积流量为 3 mL/min, 收集 15.2 min 的色谱峰, 得化合物 **1** (12.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 红色粉末, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 215 (4.12), 242 (3.47), 290 (3.80), 328 (3.95); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 418, 1 695, 1 605, 1 542, 1 484, 862, 758; ESI-MS m/z : 252 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; HR-ESI-MS m/z : 252.063 2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 252.063 7, $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NNaO}_3$)。HR-ESI-MS m/z : 显示其准分子离子峰为 252.063 2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 结合 ^1H -和 ^{13}C -NMR 谱确定分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{NO}_3$ 。其红外光谱显示化合物中有羟基 (3 418 cm^{-1}) 和芳环 (1 605, 1 542, 1 484 cm^{-1}) 信号, 紫外光谱在 215、242、290、328 nm 有最大吸收, 也证实化合物中存在芳环结构。化合物的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 谱数据 (表 1) 显示其含有 13 个碳和 11 个氢, 包括 7 个 sp^2 季碳、4 个 sp^2 次甲基、1 个芳环上的甲基、1 个羟甲基和 1 个酚羟基。5 个季碳 (δ_{C} 163.5, 151.5, 143.5, 140.6,

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

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

碳位	δ_{C} (DEPT)	δ_{H}
2	163.5 (s)	
3	103.3 (d)	6.05 (s)
4	151.5 (s)	
4a	116.5 (s)	
5	134.2 (s)	
6	121.4 (d)	7.31 (d, $J = 8.2$ Hz)
7	129.0 (d)	6.76 (d, $J = 8.2$ Hz)
8	143.5 (s)	
8a	140.6 (s)	
9	61.4 (t)	4.34 (s)
10	115.5 (d)	6.70 (s)
11	148.1 (s)	
12	23.6 (q)	2.35 (s)
Ar-OH		10.80 (s)

148.4) 的化学位移值显示它们和氧或氮原子相连。同时, 通过这些数据也可推测该化合物为 1 个和 cassiarin A 类似的三环生物碱^[6]。而该化合物中 H-3 与 C-4、C-4a, H-6 与 C-4a、C-5、C-8、C-10, H-10 与 C-4a、C-5、C-6 的 HMBC 相关 (图 1) 可进一步证实该化合物为三环生物碱。化合物的基本骨架确定后, 剩余的取代基 (1 个甲基, 1 个羟甲基和 1 个酚羟基) 的位置也可通过 HMBC 相关确定。根据甲基氢 (H_3 -12) 和 C-10、C-11 的 HMBC 相关, 可证实甲基取代在 C-11 位; 羟甲基氢 (H_2 -9) 和 C-2、C-3 的 HMBC 相关可证实羟甲基取代在 C-2 位; 酚羟基氢和 C-7、C-8、C-8a 的 HMBC 相关, 可证实酚羟基取代在 C-8 位。至此, 该化合物的结构得到确定, 命名为决明碱 L。

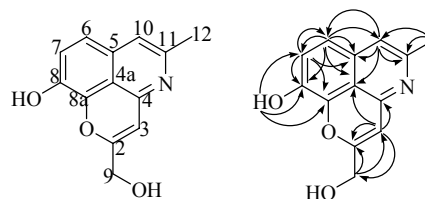


图 1 化合物 **1** 的结构和主要 HMBC (↗) 相关
Fig. 1 Structure and key HMBC correlations (↗) of compound **1**

4 化合物的细胞毒活性

由于多数文献报道生物碱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。细胞毒活性检测参照文献方法^[7]采用改良的 MTT 测定法, 以紫杉醇为阳性对照药, 采用 5 种人源癌细胞株(NB4、A549、SHSY5Y、PC3 和 MCF7), 紫杉醇的 IC₅₀ 值分别为 0.03、0.02、0.05、0.05、0.03 μmol/L, 化合物 **1** 的 IC₅₀ 值分别为 1.8、2.6、3.5、4.2、2.3 μmol/L, 结果表明化合物 **1** 对所测试的人源肿瘤细胞增殖具有明显的细胞毒活性。

参考文献

- [1] 马 洁, 张丽霞, 管艳红. 决明属 5 种傣药植物介绍 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2004(68): 178-180.
- [2] Bhakta T, Banerjee S, Mandal S C, et al. Hepatoprotective activity of *Cassia fistula* leaf extract [J]. *Phytomedicine*, 2001, 8(3): 220-224.
- [3] Lee C K, Lee P H, Kuo Y H. The chemical constituents from the aril of *Cassia fistula* L. [J]. *J Chin Chem Soc*, 2001, 48(6A): 1053-1058.
- [4] Luximon-Ramma A, Bahorun T, Soobrattee M A, et al. Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula* [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(18): 5042-5047.
- [5] Misra T N, Singh R S, Pandey H S, et al. A new diterpene from *Cassia fistula* pods [J]. *Fitoterapia*, 1997, 68(4): 375-376.
- [6] Morita H, Oshimi S, Hirasawa Y, et al. Cassiarins A and B, novel antiplasmodial alkaloids from *Cassia siamea* [J]. *Org Lett*, 2007, 9(18): 3691-3693.
- [7] 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.