

傣药翅荚决明细枝中一个新的 2-芳基苯并呋喃类化合物及细胞毒活性

马航赢, 周玲, 董伟, 王月德, 周堃, 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 对傣药翅荚决明 *Cassia alata* 细枝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 等多种色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构, 并用 MTT 法测定了化合物对 NB4、A-549、SHSY5Y、PC-3 和 MCF-7 5 种人源肿瘤细胞株的细胞毒活性。结果 从翅荚决明细枝中分离鉴定了 4 个 2-芳基苯并呋喃类化合物, 分别鉴定为 7-甲氧基-2-(4-甲氧基苯基)-3,5-二甲基苯并呋喃 (1)、桑辛素 N (2)、2-(2'-甲氧基-4'-羟基苯基)-3-甲基-6-羟基苯并呋喃 (3)、桑辛素 P (4)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为翅荚决明素 A, 该化合物对所测试的人源肿瘤细胞具有一定的细胞毒活性。

关键词: 傣药; 翅荚决明; 翅荚决明素 A; 桑辛素 N; 2-(2'-甲氧基-4'-羟基苯基)-3-甲基-6-羟基苯并呋喃; 桑辛素 P; 细胞毒活性
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)17-2975-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.17.003

A new 2-arylbenzofuran from twigs of *Cassia alata* and its cytotoxicity

MA Hang-ying, ZHOU Ling, DONG Wei, WANG Yue-de, ZHOU Kun, 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 For the purpose of finding new bioactive agents from ethnic medicines, the chemical study on Dai Medicine *Cassia alata* was carried out. **Methods** The chemical constituents from the twigs of *C. alata* were isolated by column chromatographic methods of silica gel, MCI-Gel resin, Sephadex LH-20, and HPLC. The structures were elucidated by spectroscopic methods, including extensive 1D and 2D NMR techniques. The cytotoxicity of this compound for NB-4, A-549, SHSY5Y, PC-3, and MCF-7 cells line was also evaluated by using the MTT method. **Results** Four 2-arylbenzofuran compounds were isolated from this plant and identified as 7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3,5-dimethylbenzofuran (1), moracin N (2), 2-(2'-methoxy-4'-hydroxy-aryl)-3-methy-6-hydroxybenzofuran (3), and moracin P (4). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named as 7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3,5-dimethylbenzofuran. Compound 1 also displays the high cytotoxicity to tested cancer cell-line.

Key words: Dai medicine; *Cassia alata* L.; 7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3,5-dimethylbenzofuran; moracin N; 2-(2'-methoxy-4'-hydroxy-aryl)-3-methy-6-hydroxybenzofuran; moracin P; cytotoxic activity

翅荚决明 *Cassia alata* L. 别名翅荚黄槐、翅荚槐、蜡烛花, 为豆科(Leguminosae)决明属 *Cassia* Linn. 多年生常绿灌木。其原产于美洲热带地区, 广布于全世界热带地区, 在我国分布于广东和云南南部^[1]。该植物枝叶秀丽繁茂, 花冠鲜黄色, 花姿优雅美观, 有较高的观赏价值, 常用作园林绿化树种^[2]。同时, 其也是重要的药用植物, 以根、叶、种子或全株入药, 味淡, 性寒, 具有清热解毒、消肿止痛、杀虫

止痒等功效^[2]。人们常采其鲜叶适量捣汁来治疗神经性皮炎、牛皮癣、湿疹、皮肤瘙痒、疮疖肿疡等症, 全株入药可作缓泻剂^[3]。

目前国内外学者对翅荚决明进行了一些研究, 主要报道的化学成分有黄酮、萜、甾体、萜醌等类化合物^[4-6]。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, 本实验对产于西双版纳的翅荚决明细枝化学成分进行了研究, 并从中分离到 4

收稿日期: 2016-04-09

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: 马航赢(1992—), 男, 硕士在读, 主要从事中药及天然药物活性成分研究。

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

个 2-芳基苯并呋喃类化合物 (图 1), 分别鉴定为 7-甲氧-2-(4-甲氧基苯基)-3,5-二甲基苯并呋喃[7-methoxy-2-(4-methoxyphenyl)-3,5-dimethylbenzofuran, **1**], 桑辛素 N (moracin N, **2**), 2-(2'-甲氧基-4'-羟基苯基)-3-甲基-6-羟基苯并呋喃[2-(2'-methoxy-4'-hydroxy-aryl)-3-methy-6-hydroxybenzofuran, **3**], 桑辛素 P (moracin P, **4**), 其中化合物 **1** 为新化合物, 命名为翅荚决明素 A, 并且该化合物具有一定的细胞毒活性。

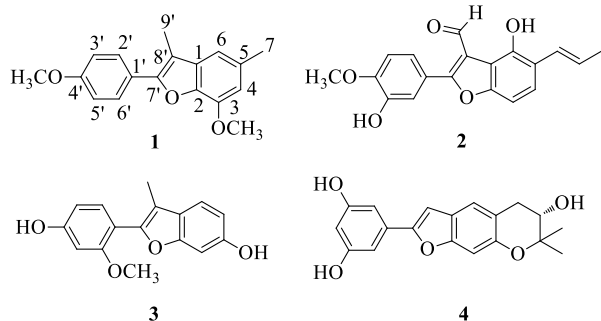


图 1 翅荚决明细枝中的 2-芳基苯并呋喃类化合物

Fig. 1 2-Arylbenzofuran compounds from twigs of *C. alata*

1 材料与方法

1.1 仪器

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); 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) 制备柱和 Zorbax C₁₈ (250 mm×9.4 mm, 5 μm) 半制备柱。

1.2 材料与试剂

拌样时使用硅胶 (80~100 目)、柱色谱硅胶 (200~300 目)、薄层色谱硅胶板 GF₂₅₄ (100 mm×100 mm) 均为青岛海洋化工厂生产; MCI 填充材料为 MCI-GEL CHP-20P (75~150 μm); Sephadex LH-20 (上海仁凯生物技术有限公司); 薄层色谱显色剂为 5% H₂SO₄ 乙醇溶液; 工业用三氯甲烷、丙酮、甲醇、醋酸乙酯; 色谱纯乙腈、四氢呋喃; 超纯水。

翅荚决明于 2013 年 8 月购自云南西双版纳傣医院, 产地为云南西双版纳勐腊县, 经西双版纳傣医院林艳芳医师鉴定为豆科决明属植物翅荚决明 *Cassia alata* L.

2 提取与分离

取翅荚决明的细枝 4.5 kg 晒干, 粉碎到 30 目, 然后用 95% 的乙醇-水溶液提取 4 次, 每次用量为

5.0 L, 室温浸泡、超声 4 次 (每次 30 min), 滤过浓缩除去乙醇, 合并提取液用醋酸乙酯萃取, 醋酸乙酯相减压浓缩得浸膏 82.5 g。浸膏用 30 g 粗硅胶 (80~100 目) 拌样, 烘干, 用 120 g 硅胶 (150~200 目) 柱色谱分离, 三氯甲烷-丙酮 (9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、1:2) 梯度洗脱, 分成 6 个部分。选取 8:2 洗脱部分进行 HPLC 进一步分离: 通过 Zorbax PrepHT GF 反相柱, 以 58% 甲醇-水溶液为流动相洗脱, 体积流量为 15 mL/min, 分别收集 35.2、28.7、18.7、12.6 min 的色谱峰可得化合物 **1**、**4**、**3**、**2** 粗品。所得的 4 个化合物粗品再次用甲醇溶解, 以甲醇为流动相, 用葡聚糖凝胶柱纯化, 得化合物 **1** (12.4 mg)、**2** (10.5 mg)、**3** (18.6 mg) 和 **4** (14.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色胶状物, UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210 (4.05)、270 (3.08)、312 (3.38); IR ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 028、2 984、1 618、1 476、1 428、1 380、1 158、1 061、895、784; ESI-MS m/z : 305 [M+Na]⁺; HR-ESI-MS m/z : 305.116 2 [M+Na]⁺ (计算值 305.115 4, C₁₈H₁₈NaO₃)。HR-ESI-MS 显示其准分子离子峰为 305.116 2 [M+Na]⁺, 结合 ¹H-和 ¹³C-NMR 谱确定分子式为 C₁₈H₁₈O₃, 不饱和度为 10。紫外光谱在 210、270、312 nm 有最大吸收, 证实化合物中存在芳环结构。化合物的 ¹H-、¹³C-NMR 和 DEPT 数据 (表 1) 显示化合物中存在 18 个碳和 18 个氢, 包含 1 个 1,2,3,5-四取代的苯环 (C-1~6, H-4 和 H-6), 1 个 1,4-取代的苯环 (C-1'~6', H₂-2', 6' 和 H₂-3', 5'), 2 个甲基 (C-7 和 C-9', H₃-7 和 H₃-9'), 1 组双键 (C-7' 和 C-8') 和 2 个甲氧基 (δ_{C} 56.1 和 55.9 q, δ_{H} 3.85 和 3.81 s)。根据化合物中核磁共振数据 (2 个苯环, C-7'~9' 和 H₃-9') 和已知化合物 **3** 相似, 可初步推测化合物 **1** 可能为 3-甲基-2-芳基苯并呋喃^[7]。此外, 可通过 H₃-9' 和 C-1、C-7'、C-8', H₂-2', 6' 和 C-7', 以及 H-6 和 C-8' 的 HMBC 相关 (图 2) 确认化合物 **1** 为 3-甲基-2-芳基苯并呋喃。化合物的骨架得到确认后, 其余的取代基团, 甲基 (C-7) 取代在 C-5 位可通过 H₃-7 和 C-4、C-5、C-6, H-4 和 C-7, 以及 H-6 和 C-7 的 HMBC 相关确定; 2 个甲基取代在 C-3 和 C-4' 位可通 2 个甲氧基氢 (δ_{H} 3.85 和 3.81) 和 C-3 (δ_{C} 151.7) 和 C-4' (δ_{C} 160.6) 的 HMBC 相关确认。至此化合物 **1** 的结构得到确认, 并命名为翅荚决明素 A。

表 1 化合物 1 的核磁共振数据 (500/125 MHz, C₅D₅N)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compound 1 (500/125 MHz, C₅D₅N)

碳位	δ _c	δ _H
1	126.6 (s)	
2	144.1 (s)	
3	151.7 (s)	
4	111.5 (d)	7.37 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz)
5	134.9 (s)	
6	116.3 (d)	7.71 (d, <i>J</i> = 1.6 Hz)
7	25.1 (q)	2.39 (s)
1'	121.5 (s)	
2', 6'	129.2 (d)	7.91 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz)
3', 5'	115.2 (d)	6.79 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz)
4'	160.6 (s)	
7'	152.8 (s)	
8'	111.0 (s)	
9'	8.8 (q)	2.17 (s)
3-OMe	56.2 (q)	3.85 (s)
4'-OMe	55.9 (q)	3.81 (s)

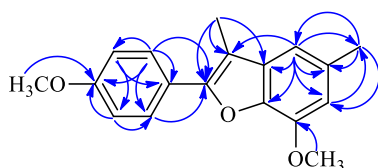


图 2 化合物 1 的主要 HMBC 相关

Fig. 2 Key HMBC (H→C) correlations of compound 1

化合物 2: 黄色粉末。¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.97 (1H, s, H-3), 7.21 (1H, s, H-4), 7.04 (1H, s, H-7), 6.68 (2H, brs, H-2', 6'), 6.22 (1H, brs, H-4'), 3.27 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1''), 5.33 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, H-2''), 1.71 (3H, s, H-4''), 1.68 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 153.7 (C-2), 101.6 (C-3), 120.6 (C-3a), 120.3 (C-4), 124.6 (C-5), 153.4 (C-6), 97.0 (C-7), 153.6 (C-7a), 131.9 (C-1'), 102.2 (C-2', 6'), 158.8 (C-3', 5'), 102.5 (C-4'), 28.3(C-1''), 123.2 (C-2''), 131.3 (C-3''), 17.7 (C-4''), 25.6 (C-5'')。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 2 为桑辛素 N。

化合物 3: 黄色非晶体粉末, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.38 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-4), 6.85 (1H,

dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz, H-5), 7.11 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-7), 6.43 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3'), 6.33 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz, H-5'), 7.14 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 149.0 (C-2), 110.4 (C-3), 118.9 (C-4), 110.6 (C-5), 156.3 (C-6), 95.6 (C-7), 154.3 (C-8), 123.8 (C-9), 108.9 (C-1'), 157.1 (C-2'), 102.8 (C-3'), 159.0 (C-4') 106.7 (C-5'), 131.3 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 3 为 2-(2'-甲氧基-4'-羟基苯基)-3-甲基-6-羟基苯并呋喃。

化合物 4: 浅黄色无定形粉末, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ: 7.24 (1H, brs, H-4), 6.98 (1H, brs, H-3), 6.86 (1H, s, H-7), 6.85 (2H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2', 6'), 6.36 (1H, t, *J* = 2.0 Hz, H-4'), 3.82 (1H, t, *J* = 5.6 Hz, H-9), 3.10 (1H, dd, *J* = 16.0, 5.6 Hz, H-8), 2.80 (1H, dd, *J* = 16.0, 5.6 Hz, H-8), 1.37 (3H, s, H-11), 1.25 (3H, s, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃COCD₃) δ: 20.5 (C-12), 26.2 (C-11), 32.4 (C-8), 69.9 (C-9), 78.0 (C-10), 99.3 (C-7), 101.8 (C-3), 103.5 (C-4'), 103.8 (C-2', 6'), 117.9 (C-5), 121.7 (C-4), 123.4 (C-3a), 133.3 (C-1'), 152.4 (C-6), 155.3 (C-2), 155.8 (C-7a), 159.7 (C-3', 5')。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 4 为桑辛素 P。

4 细胞毒活性

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^[10], 采用改良的 MTT 法, 以紫杉醇为阳性对照药, 采用 5 种人源肿瘤细胞株 (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 3.6、1.5、1.2、2.9、2.2 μmol/L, 结果表明化合物 1 对所测试的人源肿瘤细胞具有一定的细胞毒活性。

参考文献

- [1] 陈 祥, 王红娟. 优良的观赏灌木——翅荚决明 [J]. 南方农业, 2010, 4(6): 18.
- [2] 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(3): 178-180.
- [3] 张丽霞, 马 洁, 管艳红. 传统傣药对叶豆的栽培技术 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(5): 320.
- [4] 李 婷, 冯占民, 杨巡经, 等. 决明属植物的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 林产化学与工业, 2012, 32(6): 107-118.
- [5] Hazni H, Ahmad N, Hitotsuyanagi Y, et al. Phytochemical

- constituents from *Cassia alata* with inhibition against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) [J]. *Planta Med*, 2008, 74(15): 1802-1805.
- [6] Fernand V E, Dinh D T, Washington S J, *et al.* Determination of pharmacologically active compounds in root extracts of *Cassia alata* L. by use of high performance liquid chromatography [J]. *Talanta*, 2008, 74(4): 896-902.
- [7] Wang Q, Ji S, Yu S W, *et al.* Three new phenolic compounds from the roots of *Glycyrrhiza yunnanensis* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 85(1): 35-40.
- [8] Yang Z Z, Wang Y C, Wang Y, *et al.* Bioassay-guided screening and isolation of α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from leaves of *Morus alba* [J]. *Food Chem*, 2012, 131(2): 617-625.
- [9] 崔锡强, 陈若芸. 滇桑茎皮中化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 352-355.
- [10] 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.