

• 化学成分 •

羊脆木根皮中 1 个新的异苯并呋喃内脂类化合物及其细胞毒活性

杨 艳¹, 邢欢欢¹, 马航赢¹, 周 玲¹, 李银科¹, 叶艳青¹, 胡秋芬¹, 周 敏¹, 李建钢^{1,2*}

1. 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

2. 云南省曲靖市第一人民医院 麻醉科, 云南 曲靖 655000

摘要: 目的 对羊脆木 *Pittosporum kerrii* 根皮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 从羊脆木根皮 70% 丙酮提取物中分离鉴定了 3 个异苯并呋喃内酯类化合物, 分别为 5-羟基-6-异戊烯基-异苯并呋喃-1(3H)-酮 (1)、5-甲基-6-异戊烯基-异苯并呋喃-1(3H)-酮 (2)、5-甲氧基-6-(3-O-乙酰基)-丙酰基-异苯并呋喃-1(3H)-酮 (3)。其中化合物 1 为新化合物, 命名为羊脆木素 A。并对化合物 1 进行了细胞毒活性测试, 其对 NB4、SH-SY5Y、PC3、A549 和 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 值分别为 3.6、5.2、8.8、5.7 和 6.0 μmol/L。结论 化合物 1~3 均为首次从羊脆木中分离得到, 化合物 1 为新化合物, 且表现出细胞毒活性。

关键词: 羊脆木; 异苯并呋喃内脂; 细胞毒活性; 5-羟基-6-异戊烯基-异苯并呋喃-1(3H)-酮; 羊脆木素 A

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)23-4134-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.002

A new isobenzofuranlactone from root barks of *Pittosporum kerrii* and its cytotoxicityYANG Yan¹, XING Huan-huan¹, MA Hang-ying¹, ZHOU Ling¹, LI Yin-ke¹, YE Yan-qing¹, HU Qiu-fen¹, ZHOU Min¹, LI Jian-gang^{1,2}

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

2. Department of Anesthesiology in Qujing First People's Hospital, Qujing 655000, China

Abstract: **Objective** To research the chemical constituents in the root barks of *Pittosporum kerrii*. **Methods** The chemical constituents in the root barks of *P. kerrii* were isolated by silica gel, Sephadex LH-20 column chromatographies, and RP-HPLC methods. Their structures were elucidated using various spectroscopic techniques, including extensive 1D and 2D NMR techniques. **Results** Three isobenzofuranlactones were isolated from the 70% acetone extract in the root barks of *P. kerrii*. They were 5-hydroxy-6-prenyl-isobenzofuran-1(3H)-one (1), 5-methyl-6-prenyl-isobenzofuran-1(3H)-one (2), and 3-(6-methoxy-3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-yl)-3-oxopropyl acetate (3). **Conclusion** Compounds 1—3 are isolated from *P. kerrii* for the first time. Compound 1 is a new compound and it is identified as 5-hydroxy-6-prenyl-isobenzofuran-1(3H)-one, named as kerriin A. 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 μmol/L, respectively.

Key words: *Pittosporum kerrii* Craib; isobenzofuranlactone; cytotoxicity; 5-hydroxy-6-prenyl-isobenzofuran-1(3H)-one; kerriin A

羊脆木 *Pittosporum kerrii* Craib 为海桐花科 (Pittosporaceae) 海桐花属 *Pittosporum* Bank 植物, 在我国主要分布在云南的东南至西南部, 其根皮及树皮可入药, 具有疏风、解表、止疟功效^[1]。李祖强等^[2-5]研究了羊脆木枝叶树皮的化学成分, 主要报

道的化合物有脂肪酸、黄酮、苯丙素、甾醇、三萜等类型。为充分利用我国丰富的天然植物药资源, 进一步从天然植物宝库中发掘活性化合物, 本实验对羊脆木根皮的化学成分进行了研究, 从中分离得到 3 个异苯并呋喃内脂类化合物, 分别鉴定为 5-羟

收稿日期: 2016-06-29

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: 杨 艳 (1992—), 女, 硕士在读, 主要从事中药及天然药物活性成分研究。E-mail: 915810485@qq.com

*通信作者 李建钢, 男, 硕士, 主治医师, 主要从事临床药理学和麻醉相关工作。Tel: (086)68329045 E-mail: huqiu-fena@aliyun.com

基-6-异戊烯基-异苯并呋喃-1(3*H*)-酮 (5-hydroxy-6-prenyl-isobenzofuran-1(3*H*)-one, **1**)、5-甲基-6-异戊烯基-异苯并呋喃-1(3*H*)-酮 [5-methyl-6-prenyl-isobenzofuran-1(3*H*)-one, **2**]、5-甲氧基-6-(3-*O*-乙酰基)-丙酰基-异苯并呋喃-1(3*H*)-酮 [3-(6-methoxy-3-oxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-yl)-3-oxopropyl acetate, **3**]。化合物 **1**~**3** 均为首次从羊脆木根皮中分离得到, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为羊脆木素 A, 该化合物对 NB4、SH-SY5Y、PC3、A549 和 MCF-7 细胞的 IC₅₀ 值分别为 3.6、5.2、8.8、5.7 和 6.0 μmol/L, 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 BIO-RAD 公司); DRX-500 型核磁共振仪 (瑞士布鲁克公司); LC-8A 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); Zorbax PrepHT GF (250 mm×21.2 mm, 7 μm) 色谱柱和 Zorbax C₁₈ (250 mm×9.4 mm, 5 μm) 色谱柱 (美国安捷伦公司)。柱色谱硅胶 (80~100、200~300 目)、GF₂₅₄ (100 mm×100 mm) 硅胶板, 均为青岛海洋化工厂生产; Sephadex LH-20 凝胶为美国通用电气公司生产; 薄层色谱法显色, 显色剂为 5% H₂SO₄ 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。

羊脆木样品采于云南红河州河口县, 经云南民族大学杨青松副教授鉴定为海桐花科海桐花属植物羊脆木 *Pittosporum kerrii* Craib。本实验中所用材料为该植物的根皮部分。

2 提取与分离

取 2.2 kg 晒干的羊脆木根皮粉碎到 30 目, 70% 的丙酮水溶液提取 4 次, 每次 3.0 L, 室温浸泡、超声 4 次 (每次 30 min), 滤过。合并提取液, 浓缩, 醋酸乙酯萃取 3 次 (每次 2 L), 减压浓缩得浸膏 55.2

g。浸膏用 80 g 粗硅胶 (80~100 目) 拌样, 烘干, 用 320 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 (3.2 g) 通过 HPLC 进一步分离, 过葡聚糖凝胶柱净化, 可得化合物 **1** (10.6 mg)、**2** (12.2 mg)、**3** (14.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 浅黄色胶状物; HR-ESI-MS *m/z*: 241.083 2 [M+Na]⁺ (计算值 241.084 1, C₁₃H₁₄NaO₃)。结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱确定分子式为 C₁₃H₁₄O₃, 不饱和度为 7。IR 光谱显示化合物中有羟基 (3 389 cm⁻¹)、羰基 (1 715 cm⁻¹) 和芳环 (1 610、1 566 和 1 467 cm⁻¹) 信号, UV 在 305、272 和 210 nm 有最大吸收, 也证实化合物中存在芳环结构。从 ¹H- 和 ¹³C-NMR 谱 (表 1) 信号可以看出化合物中有 1 个 1,2,4,5-四取代的苯环 δ_C 126.0 (s), 159.2 (s), 111.2 (d), 144.7 (s), 116.4 (s), 130.2 (d); δ_H 6.74 (s), 7.78 (s); 1 个异戊烯基 δ_C 27.2 (t), 124.2 (d), 133.3 (s), 17.6 (q), 25.8 (q); δ_H 3.27 (d, *J* = 6.8 Hz)、5.30 (t, *J* = 6.8 Hz)、1.57 (s)、1.81 (s); 1 个氧化亚甲基 δ_C 68.9 (t) 和 δ_H 5.52 (s); 1 个酯羰基 δ_C 168.6 (s); 1 个酚羟基 δ_H 10.44 (s) 信号。根据 H₂-1' (δ_H 5.52) 和 C-2' (δ_C 168.6)、C-3 (δ_C 111.2)、C-4 (δ_C 144.7)、C-5 (δ_C 116.4), H-3 (δ_H 6.74) 和 C-1 (δ_C 111.2), H-6 (δ_H 7.78) 和 C-2' (δ_C 168.6) 的 HMBC 相关 (图 1) 可证实化合物 **1** 为异苯并呋喃内酯类化合物^[6], C-1' 和 C-2' 通过氧原子连接形成了五元内酯环。根据 H-8 (δ_H 5.30) 和 C-1 (δ_C 126.0), H-7 (δ_H 3.27) 和 C-1 (δ_C 126.0)、C-2 (δ_C 159.2)、C-6 (δ_C 130.2), H-6 (δ_H 7.78) 和 C-7 (δ_C 27.2) 的 HMBC 相关可证实异戊烯基连接在苯环的 1 位, 根据酚羟基 (δ_H 10.44) 和 C-1 (δ_C 126.0)、C-2 (δ_C 159.2)、C-3 (δ_C 111.2) 的 HMBC 相关可证实酚羟基取代在 C-2 位。至此化合物 **1** 的结构得以确定 (图 2), 命名为羊脆木素 A。

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 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	碳位	δ _C	δ _H
1	126.0 s		8	124.2 d	5.30 (t, <i>J</i> = 6.8 Hz)
2	159.2 s		9	133.3 s	
3	111.2 d	6.74 (s)	10	17.6 q	1.57 (s)
4	144.7 s		11	25.8 q	1.81 (s)
5	116.4 s		1'	68.9 t	5.52 (s)
6	130.2 d	7.78 (s)	2'	168.6 s	
7	27.2 t	3.27 (d, <i>J</i> = 6.8 Hz)	Ar-OH		10.44 (s)

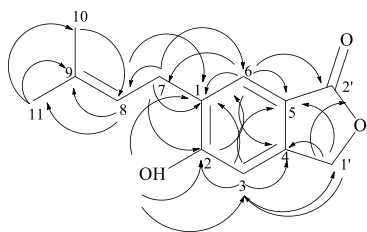


图 1 化合物 1 的主要 HMBC (↷) 相关
Fig. 1 Key HMBC correlations (↷) of compound 1

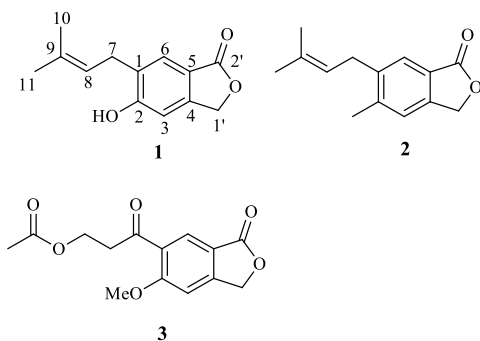


图 2 化合物 1~3 的结构
Fig. 2 Structures of compounds 1—3

化合物 2 和 3 为已知化合物 (图 2), 通过其波谱数据与文献对比, 分别鉴定为 5-甲基-6-异戊烯基-异苯并呋喃-1(3*H*)-酮^[7]、5-甲氧基-6-(3-*O*-乙酰基)-丙酰基-异苯并呋喃-1(3*H*)-酮^[8]。

4 化合物的细胞毒性

生物碱类化合物具有明显的细胞毒性, 因此对化合物 1 进行了细胞毒性筛选。细胞毒性检测参照文献方法^[9], 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。紫杉醇对 5 种癌细胞的 IC_{50} 值分别为 0.03、0.02、0.05、0.05 和 0.03 $\mu\text{mol/L}$, 化合物 1 的 IC_{50} 值分别为 3.6、5.2、8.8、5.7 和 6.0 $\mu\text{mol/L}$, 结果表明化合物 1 对所测试的人源肿瘤细胞具有细胞毒性。

参考文献

- [1] 江苏省植物研究所, 中国医学科学院药物研究所. 新华本草纲要 (第 3 册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.
- [2] 罗 蕾, 李祖强, 张吕丽, 等. 羊脆木的化学成分研究 (I) [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2013, 35(1): 83-86.
- [3] 罗 蕾, 张吕丽, 李祖强, 等. 羊脆木的化学成分研究 (II) [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2014, 35(6): 903-906.
- [4] 吴云飞, 罗 蕾, 李祖强, 等. 羊脆木树皮的化学成分研究 (I) [J]. 云南师范大学学报: 自然科学版, 2014, 34(4): 61-64.
- [5] 张吕丽, 任明丽, 海 清, 等. 羊脆木树皮的化学成分研究 (II) [J]. 云南师范大学学报: 自然科学版, 2015, 35(6): 50-52.
- [6] Shen Q P, Li L, Xu X M, *et al.* Phenylpropanoids from the leaves of *Nicotiana tabacum* and their anti-tobacco mosaic virus activities [J]. *Heterocycles*, 2015, 91(9): 1775-1780.
- [7] Shen Q P, Xu X M, Zhang F M, *et al.* Two new benzolactones from the leaves of *Nicotiana tabacum* and their anti-tobacco mosaic virus activities [J]. *Nat Prod Rep*, 2016, 30(13): 1464-1469.
- [8] Kong G H, Wu Y P, Shi J L, *et al.* Anti-tobacco mosaic virus phenylpropanoids from the stems of *Nicotiana tabacum* [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 14: 230-233.
- [9] 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.