

傣药翅荚决明树皮中一个新异喹啉生物碱及其细胞毒活性

周玲^{1,2}, 马航赢², 杨艳², 邢欢欢², 叶艳青^{1,2}, 胡秋芬², 周敏², 李建钢^{2,3*}

¹云南民族大学化学与环境学院; ²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, 昆明 650500; ³云南省曲靖市第一人民医院麻醉科, 曲靖 655000

摘要:对傣药翅荚决明 *Cassia alata* 树皮的化学成分进行研究。运用硅胶、凝胶、MCI-gel 树脂及 PR-HPLC 等多种色谱技术从 95% 的乙醇提取物中分离鉴定了一个新的异喹啉生物碱类化合物, 该化合物命名为 3-hydroxy-1-(7-hydroxy-6-methoxyisoquinolin-1-yl)propan-1-one (**1**), 中文名为翅荚决明(**1**)。生物活性测试中, 其对 NB4、A549、SHSY5Y、PC3 和 MCF7 的 IC₅₀ 值分别为 2.2、1.6、3.8、5.3 和 1.6 μM。翅荚决明(**1**) 为新化合物, 并且表现出一定的细胞毒活性。

关键词: 傣药; 翅荚决明; 异喹啉生物碱; 细胞毒活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.10.003

A New Isoquinoline Alkaloids from Stem Barks of *Cassia alata* and Its Cytotoxicity

ZHOU Ling^{1,2}, MA Hang-ying², YANG Yan², XING Huan-huan²,

YE Yan-qing^{1,2}, HU Qiu-fen², ZHOU Min², LI Jian-gang^{2,3*}

¹School of Chemistry & Environment, Yunnan Minzu University;

²Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China; ³Anesthesiology in the Qujing First People's Hospital, Qujing 655000, China

Abstract: A new isoquinoline alkaloids (**1**), has been isolated from the bark of *Cassia alata* by using various chromatographic techniques. Compound **1** is a new compound, determined as 3-hydroxy-1-(7-hydroxy-6-methoxyisoquinolin-1-yl)propan-1-one, and it displayed cytotoxicity against NB4, A549, SHSY5Y, PC3 and MCF7 cell lines with IC₅₀ values of 2.2, 1.6, 3.8, 5.3 and 1.6 μM, respectively.

Key words: Dai medicine; *Cassia alata* L.; isoquinoline alkaloids; cytotoxic activity

翅荚决明 *Cassia alata* L. 为豆科决明属下的一个种。原产美洲热带地区, 广布于全世界热带地区, 在我国分布于广东和云南南部地区^[1]。该植物花色艳丽, 有较高的观赏价值, 常用作园林绿化树种^[2]。同时, 它也是重要的药用植物, 具有杀真菌的作用, 可以用来治疗皮肤病, 是香皂、洗发液、洗液的常用原料之一。它的种子含有的皂角苷可以作为驱除肠道寄生虫的驱虫剂; 其叶水煎液常被用来治疗高血压、胃病、发烧、哮喘、毒蛇咬伤、性病等。

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]。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, 本文对翅荚决明化学成分进行了研究, 并从中分离到一个新的异喹啉生物碱, 该化合物具有明显的细胞毒活性。

1 仪器与材料

1.1 仪器与设备

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)。

1.2 材料与试剂

拌样时使用 80 ~ 100 目硅胶, 色谱时使用 200 ~ 300 目硅胶, GF₂₅₄(100 × 100 mm) 硅胶板, 均为青

收稿日期: 2016-06-21

收稿日期: 2016-07-22

基金项目: 国家自然科学基金(21362044, 21032085); 云南省高校科技创新团队(IRTSTYN 2014-11)

* 通讯作者 Tel: 86-68329045; E-mail: huqiufena@aliyun.com

岛海洋化工厂生产;MCI 填充材料为 MCI-gel CHP-20P(75 ~ 150 μm);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、乙酸乙酯、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磨憨县,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。

2 提取与分离

取翅荚决明的树皮 2.5 kg 晒干,粉碎到 30 目,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),然后过滤。合并提取液用 3% 的酒石酸溶液 10 L 稀释,用乙酸乙酯萃取。水相用碳酸钠饱和,再次用乙酸乙酯萃取,乙酸乙酯相减压浓缩得浸膏 18.5 g。浸膏用 25 g(80 ~ 100 目)粗硅胶拌样,烘干,用 120 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。选取 6:4 洗脱部分进行 HPLC 进一步分离;用 Agilent Zorbax PrepHT GF(21.2 mm \times 25 cm)反相柱,以 40% 甲醇水溶液为流动相,流速为 15 mL/min,收集 35.2 min 的色谱峰,得化合物粗品。粗品再用甲醇溶解,以甲醇为流动相,用葡聚糖凝胶柱净化,得纯品 10.8 mg。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色胶状物, mp. 168 ~ 169 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25.2}$ -8.4 (c 0.5, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210 (4.32), 260 (3.46), 295 (3.08), 332 (3.35) nm; IR ν_{max} (KBr) (cm^{-1}): 3409, 3084, 2968, 1658, 1615, 1562, 1450, 1364, 1242, 1153, 1038, 863。HR-ESI-MS 显示其准分子离子峰为 270.0749 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (calcd for 270.0742, $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NNaO}_4$), 结合 ^1H 和 ^{13}C NMR 谱确定分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NNaO}_4$ 。其红外光谱显示化合物中有羟基 (3409 cm^{-1})、羰基 (1658 cm^{-1}) 和芳环 ($1615, 1562, 1450\text{ cm}^{-1}$) 信号,紫外光谱在 210、260、295、332 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 13 个碳和 13 个氢,包括一个 1,6,7-取代的异喹啉母核(C-1 ~ C-10;H-3, H-4, H-5 和 H-8)^[4,5], 一个 3-羟基丙酮基(-CO-CH₂-CH₂-OH; C-1' ~ C-3'; H₂-2' 和 H₂-3')^[6], 一个甲氧基(δ_{C} 55.8; δ_{H} 3.81 s) 和一个

酚羟基(δ_{H} 10.80 s)。化合物中 H-3 和 C-1、C-4、C-10; H-4 和 C-3、C-9、C-10; H-5 和 C-4、C-9、C-10; 以及 H-8 和 C-1、C-9、C-10 的 HMBC 相关(图 1)也证实了异喹啉母核的存在。化合物的母核确定后,剩余的取代基,3-羟基丙酮基、甲氧基和酚羟基的位置也可以通过进一步分析其 HMBC 相关谱确定。3-羟基丙酮基取代在 C-1 位可由 H₂-2'(δ_{H} 3.24) 和 C-1(δ_{C} 156.3) 的 HMBC 相关确定;甲氧基取代在 C-7 位可由甲氧基氢(δ_{H} 3.78) 和 C-7(δ_{C} 154.0) 的 HMBC 相关确定;酚羟基氢(δ_{H} 3.78) 和 C-6(δ_{C} 152.8)、C-7(δ_{C} 154.0)、C-8(δ_{C} 106.3) 的 HMBC 相关可证实酚羟基取代在 C-7 位。至此化合物 1 的结构得到确认,该化合物命名为:3-hydroxy-1-(7-hydroxy-6-methoxy isoquinolin-1-yl) propan-1-one, 中文名为翅荚决明(1)。

表 1 化合物的 ^1H 和 ^{13}C 核磁共振数据(500 和 125 MHz, 溶剂为 $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

No.	δ_{C} (m)	δ_{H} (m, J in Hz)
1	156.3 (s)	
3	138.5 (d)	8.23 (d, 6.2)
4	122.9 (d)	7.34 (d, 6.2)
5	106.9 (d)	7.05 (s)
6	152.8 (s)	
7	154.0 (s)	
8	106.3 (d)	7.84 (s)
9	122.1 (s)	
10	137.2 (s)	
1'	197.3 (s)	
2'	39.5 (t)	3.24 (t, 6.8)
3'	58.5 (t)	4.33 (t, 6.8)
-OMe-6	55.8 (q)	3.81 (s)
Ar-OH		10.80 (s)

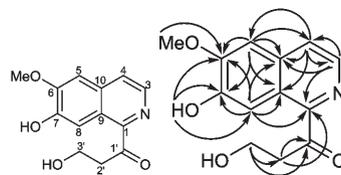


图 1 化合物 1 的化学结构及主要 HMBC 相关(↷) Fig. 1 Chemical structure and key HMBC correlations (↷) of compound 1

4 化合物的细胞毒活性

由于有文献报道铁刀木中的蒽醌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^[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 和 0.03 μM,化合物 **1** 的 IC₅₀ 值分别为 2.2、1.6、3.8、5.3 和 1.6 μM,结果表明化合物 **1** 对所测试的人源肿瘤细胞增殖具有一定的细胞毒活性。

参考文献

- 1 Chen X (陈祥), Wang HJ (王红娟). Excellent ornamental shrubs—*Cassia alata*. *South China Agric* (南方农业), 2010, 4(6):18.
- 2 Man J (马洁), Zhang LX (张丽霞), Guan YH (管艳红).

Introduction of 5 kinds of Dai's BFQ medicine plant of *Cassia* L. *Chin J Ethnomed Ethnopharm* (中国民族民间医药杂志), 2004, 68:178-180.

- 3 Yu L (于玲), Wang LC (王力川). Research of efficient components in goldenshower senna on Dai nationality medicine. *Hebei Chem Eng Ind* (河北化工), 2009, 32(3):22-24.
- 4 Chen CY, Chang FR, Pan WB, et al. Four alkaloids from *Annona cherimola*. *Phytochemistry*, 2001, 56:753-757.
- 5 Abu Zarga MH, Miana GA, Shamma M, Gandharamine: A new benzyloisoquinoline alkaloid from *Berberis baluchistanica*. *Heterocycles*, 1982, 18, 63-65.
- 6 Hu QF, Zhou B, Gao XM, et al. Antiviral chromones from the stem of *Cassia siamea*. *J Nat Prod*, 2012, 75:1909-1914.
- 7 Hu QF, Zhou B, Ye YQ, et al. Cytotoxic deoxybenzoins and diphenylethylenes from *Arundina graminifolia*. *J Nat Prod*, 2013, 76:1854-1859.

(上接第 1646 页)

- 3 Wang Y (王昱), Wang SQ (王胜青), Ye WB (叶文斌), et al. Effect of oleuropein on learning and memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *Chin J New Drug* (中国新药杂志), 2015, 24(14):91-95.
- 4 Wang Y (王昱). Effects of oleuropein combined methadone on indexes of erythrocyte parameters and hemorheology in the heroin dependence rats. *J Dezhou Univ* (德州学院学报), 2015, 31(2):47-50.
- 5 Wang Y (王昱), Wang SQ (王胜青), Cui WH (崔文辉), et al. Olive leaf extract improves cognition and reduces oxidative damage and apoptosis in mice with heroin dependence. *Acta Anat Sin* (解剖学报), 2015, 46:469-477.
- 6 Xong N (熊年), Wei S (韦晟). Study on protection of ginkgolide b against myocardial ischemia reperfusion injury and its mechanism. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药学), 2015, 32:289-295.
- 7 Zheng HJ (郑海娟), Wang WT (王维亭), Hao CH (郝春华), et al. Therapeutic effects of Di'ao Xinxuekang on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Tianjin Med J* (天津医药), 2015, 43:491-495.
- 8 Zhang YF (张艳芳), Zhang JH (张俊河), Yang TT (杨廷桐), et al. Dynamic changes of interleukin-1 and interleu-

kin-8 in myocardial ischemia/reperfusion injury and the study of medicine precondition. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res* (中国组织工程研究与临床康复), 2007, 11:9083-9086.

- 9 Tang DL (唐丹丽), Liu ZH (刘寨华), Zhang HM (张华敏), et al. Protective effects of Xuefu decoction on myocardium ischemia reperfusion injury in rats. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2010, 35:3077-3079.
- 10 Sihvola RK, Koskinen PK, Pulkkinen VP, et al. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha attenuates myocardial remodeling in rat cardiac allografts. *Heart Lung Transplant*, 2006, 25:569-578.
- 11 Fang XH (方新华). Protection and mechanism of *Portulaca oleracea* extract on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2014, 30(6):65-68.
- 12 Nelson J, Bagnato A, Batfifini B, et al. The endothelin axis: engining role cancer. *Nat rev Cancer*, 2003, 3:110-116.
- 13 Dong HJ (董化江), Shan NN (单娜娜), Luo RC (罗悦晨), et al. L-arginine suppresses ischemia/reperfusion induced up-regulation of endothelin-1 production in a rat model of acute myocardial injury. *Chin Critic Care Med* (中国危重病急救医学), 2011, 23:731-733.