

米仔兰中环戊烷并苯呋喃化学成分及细胞毒活性研究

谢兵¹, 蔡小华¹, 冯育军²

(1. 贵州民族大学化学与环境科学学院, 贵州贵阳 550025; 2. 怀化医学高等专科学校药理学系, 湖南怀化 418000)

摘要 [目的]对米仔兰中环戊烷并苯呋喃化学成分及细胞毒活性进行研究。[方法]采用硅胶、Sephadex LH-20 柱层析及制备薄层色谱等分离方法,对米仔兰(*Aglaia odorata* Lour.)的化学成分进行研究,通过¹H NMR、¹³C NMR 和 MS 等波谱技术鉴定化合物的结构,并采用 MMT 法对其细胞毒活性进行测试。[结果]从米仔兰枝叶中分离得到 6 个包含环戊烷并苯呋喃结构的化合物,鉴定分别是 rocamide, aglaroxin E、3'-Hydroxyrocaglafolin、3'-Hydroxyaglamide, rocaglaol 和 cyclorocaglamide。在极低的浓度下,化合物 1~5 分别对肿瘤细胞株 A-539 和 MCF-7 显示出细胞毒活性。[结论]化合物 2 和 6 在米仔兰植物中首次被发现;化合物 1~5 具有较好的细胞毒活性。

关键词 米仔兰(*Aglaia odorata* Lour.); 环戊烷并苯呋喃; 化学成分; 细胞毒活性

中图分类号 S188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)10-04331-03

Cyclopenta[b]benzofurans Chemical Constituents and Their Cytotoxicity Activity from *Aglaia odorata* Lour.

XIE Bing et al (College of Chemistry and Environmental Science, Guizhou Minzu University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract [Objective] To study cyclopenta[b]benzofurans chemical constituents and their cytotoxicity activity from *Aglaia odorata* Lour. [Method] Column chromatographies of silica gel, Sephadex LH-20 and preparative TLC were used to isolate and purify the chemical constituents from *Aglaia odorata* Lour. The structures were identified by ¹H NMR, ¹³C NMR, MS techniques, MMT method was adopted to test cytotoxicity activity. [Result] Six compounds including cyclopenta[b]benzofuran from the twigs and leaves of *Aglaia odorata* Lour. were separated, including rocamide, aglaroxin E, 3'-Hydroxyrocaglafolin, 3'-Hydroxyaglamide, rocaglaol and cyclorocaglamide. The result indicated that compounds 1-5 exhibit significant cytotoxicity against A-549 and MCF-7. [Conclusion] Compound 2 and 6 were found firstly in *Aglaia odorata* Lour.; compound 1-5 has good cytotoxicity activity.

Key words *Aglaia odorata* Lour.; Cyclopenta[b]benzofurans; Chemical constituents; Cytotoxicity activity

米仔兰(*Aglaia odorata* Lour.)是楝科(Meliaceae)米仔兰属(*Aglaia*)植物中的一种常绿灌木或小乔木,别名珠兰、树兰、鱼仔兰等,常生于低海拔山地的疏林或灌木林中,主要分布于东南亚各国和我国南部地区,广西、广东、云南、贵州、福建和四川等省常有栽培。米仔兰的枝、叶可以入药,具有活血散瘀和消肿止痛的功效,可用于风湿关节痛、跌打损伤和痈疽肿毒等治疗^[1]。国外对米仔兰属植物化学成分进行了较为深入的研究,从该属植物中所分离得到的化学成分主要涉及环戊烷并苯呋喃、双酰胺、木质素、三萜、甾体、黄酮类、四降三萜等^[2-4],其中环戊烷并苯呋喃类化合物因化学结构新型且具有很强的杀虫和抗肿瘤作用^[5-6],而受到人们的极大关注。如:楝酰胺 rocamide (1)是米仔兰属植物中表现出明显的杀虫、抗肿瘤和抗炎活性,对人体癌细胞有很强的细胞毒活性,rocamide 及几个其他衍生物成为目前已知的最强的 NF- κ B 的诱导基因抑制剂之一^[7-8]。除了明显的杀虫和抗肿瘤活性外,rocamide 类化合物还表现出明显的抗炎和高效的免疫保护活性^[9-10]。目前,有关产于中国的米仔兰属植物的化学成分研究报道较少^[11-12]。因此,研究对采集于湖南南部通道县的米仔兰枝叶进行化学成分研究,从其浓度 95% 乙醇提取物分离获得 6 个包含环戊烷并苯呋喃结构的化合物,通过¹H NMR, ¹³C NMR 和 MS 等波谱技术鉴定化合物的结构,并采用 MMT

法测试化合物(1~6)对肺癌细胞株 A-549 和乳腺癌细胞株 MCF-7 的细胞毒活性,以期对米仔兰的进一步开发利用提供依据。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 研究对象。米仔兰枝叶,采集于湖南通道县,由怀化医专梅树谟老师鉴定为 *Aglaia odorata* Lour.。

1.1.2 主要仪器。Varian 400 核磁共振仪,购自 Varian 公司;DRX-500 MHz 超导核磁共振仪,购自 Bruker 公司;VG Auto Spec-3000 型质谱仪,购自 VG 公司;Perkin Elmer Model 341 型旋光仪,购自 Perkin Elmer 有限公司;

1.1.3 主要试剂。200~300 目硅胶和 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶,市售。

1.2 方法

1.2.1 样品的提取与分离。取自然风干的米仔兰枝叶 10.00 kg,经过粉碎,用 30 L 浓度 95% 乙醇溶液室温浸泡,提取 3 次,每次时间为 6 h,合并提取液,减压浓缩后得到半固体状粗浸膏。将所得浸膏用水分散后,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇各萃取 3 次,浓缩,分别得石油醚部位、氯仿部位、乙酸乙酯部位和正丁醇部位。氯仿部位和乙酸乙酯部位经反复硅胶(流动相为氯仿:异丙醇=9:1, V/V)和 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱(流动相为丙酮)层析,最后经过制备 TLC 纯化(氯仿:乙酸乙酯:无水甲醇=80:15:5, V/V/V),共分离得到 6 个包含环戊烷并苯呋喃结构的化合物。

1.2.2 细胞毒活性试验。将分离得到的化合物 1~6 溶解于 DMSO 中,用培养基稀释成不同质量浓度。取对数生长期的 2 种癌细胞(肺癌细胞株 A-549 和乳腺癌细胞株 MCF-7),以细胞浓度为 5×10^4 个/ml 接种于 96 孔细胞培养板中,

基金项目 国家自然科学基金资助项目(20962006);贵州省教育厅培育项目(黔教科 200900021)。

作者简介 谢兵(1963-),男,贵州遵义人,教授,硕士,从事有机合成及天然活性成分提取分离研究, E-mail: bing-xie1963@hotmail.com。

收稿日期 2013-03-02

每孔 200 μl , (细胞浓度为 1×10^5 个/孔); 培养 24 h 后, 弃原液, 加样品溶液 200 μl , 继续培养 48 h 后加 20 μl MTT, 4 h 后吸去上清液, 每孔加 DMSO 100 μl , 振荡溶解 10 min, 用酶标仪测其吸光度^[18]。

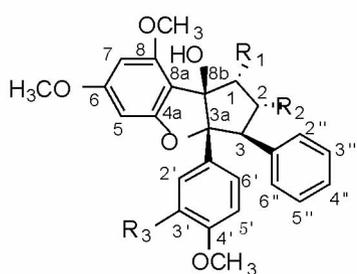
2 结果与分析

2.1 结构鉴定 从乙酸乙酯部分率先分离得到的化合物 1~4, 分别是 rocaglamide、aglaroxin E、3'-Hydroxyrocaglafolin 和 3'-Hydroxyaglamide, 其波谱分析数据笔者在文献^[13]已经作了相应的报道。来自氯仿部分的化合物 5 和 6 的分析数据如下:

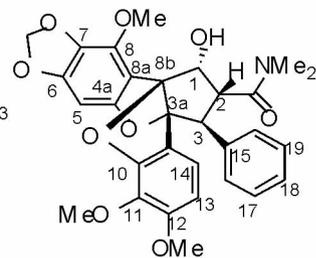
化合物 5: 无色油状固体; $[\alpha]_D^{20} - 126^\circ$ ($c = 0.50$, CHCl_3); EI-MS m/z (%): 434 ($[M]^+$, 16), 416 (15), 313 (20), 300 (100), 285 (48), 269 (9), 193 (13), 181 (28), 151 (20), 135 (23); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 2.09 (1H, m, H-2b), 2.66 (1H, t d, $J = 11.6, 6.8$ Hz, H-2a), 3.63 (3H, s, OMe-4'), 3.80 (6H, s, OMe-6, OMe-8), 3.97 (1H, dd, $J = 11.6, 6.8$ Hz, H-3), 4.76 (1H, d, 6.8 Hz, H-1), 6.10 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7), 6.28 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5), 6.65 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3', 5'), 6.96 (2H, d, $J = 9.2$ Hz, H-2'', 6''), 7.05 (3H, m, H-3'', 4'', 5''), 7.09 (2H, m, H-2', 6'); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 36.1 (t, C-2), 53.0 (d, C-3), 55.7, 55.6, 54.8 (q, OMe $\times 3$), 87.9 (d, C-1), 89.4 (d, C-5), 92.5 (d, C-7), 94.7 (s, C-8b), 104.0 (s, C-3a), 107.8 (s, C-8a), 112.5 (d, C-3' 5'), 126.0 (d, C-4''), 126.6 (s, C-1'), 127.7 (d, C-3'', 5''), 128.1 (d, C-2'', 6''), 128.8 (d, C-2',

6'), 138.5 (s, C-1''), 163.5, 161.0, 158.8, 157.2 (s, C-6, 8, 4', 4a); 以上数据与文献^[14]数据基本一致, 鉴定为 rocaglaol。

化合物 6: 白色无定形固体; $[\text{R}]_D^{20} + 180.5^\circ$ ($c = 1.25$, EtOH); EI-MS m/z (%): 547 ($[M]^+$, 100), 502 (25), 484 (14), 457 (30), 432 (56), 372 (10), 355 (28), 335 (15), 267 (8), 176 (9), 168 (6), 131 (8); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 2.92 (3H, s, NCH_3), 3.25 (3H, s, NCH_3), 3.69 (1H, dd, $J = 13.2, 4.6$ Hz, H-2), 3.76 (3H, s, $\text{OCH}_3 - 12$), 3.85 (3H, s, $\text{OCH}_3 - 11$), 4.18 (3H, s, $\text{OCH}_3 - 8$), 4.53 (1H, d, $J = 13.2$ Hz, H-3), 4.98 (1H, d, $J = 4.6$ Hz, H-1), 5.65 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-14), 5.95, 5.93 (2H, d, $J = 1.8$ Hz, OCH_2O), 6.18 (1H, s, H-5), 6.25 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-13), 7.18 (2H, m, H-16, H-20), 7.30 (3H, m, H-17, H-18, H-19); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 125 MHz) δ : 35.8, 37.5 (q, $2 \times \text{NCH}_3$), 50.89 (d, C-2), 55.1 (d, C-3), 56.6 (q, $\text{OCH}_3 - 12$), 59.9 (q, $\text{OCH}_3 - 8$), 60.6 (q, $\text{OCH}_3 - 11$), 74.9 (d, C-1), 88.5 (d, C-5), 102.1 (t, O- CH_2 -O), 105.3 (s, C-3a), 106.2 (s, C-13), 107.8 (s, C-8a), 109.7 (s, C-8b), 119.8 (s, C-9), 122.5 (d, C-14), 127.6 (d, C-17/C-19), 127.9 (d, C-18), 129.1 (d, C-16/C-20), 131.3 (s, C-7), 134.0 (s, C-11), 138.5 (s, C-15), 142.0 (s, C-8), 153.7 (s, C-6), 154.2 (s, C-10), 155.5 (s, C-12), 158.0 (s, C-4a), 170.2 (s, C-21)。以上数据与文献^[17]数据基本一致, 鉴定为 cyclorocaglamide, 该化合物是首次从米仔兰植物中分离得到。



- 1 $\text{R}_1 = \text{OH}, \text{R}_2 = \text{CON}(\text{CH}_3)_2, \text{R}_3 = \text{H}$
Rocaglamide
- 2 $\text{R}_1 = \text{OH}, \text{R}_2 = \text{CON}(\text{CH}_3)_2, \text{R}_3 = \text{OCH}_3$
Rglaroxin E
- 3 $\text{R}_1 = \text{OH}, \text{R}_2 = \text{COOCH}_3, \text{R}_3 = \text{OH}$
3'-Hydroxyaglafolin
- 4 $\text{R}_1 = \text{OH}, \text{R}_2 = \text{CON}(\text{CH}_3)_2, \text{R}_3 = \text{OH}$
3'-Hydroxyrocaglamide
- 5 $\text{R}_1 = \text{OH}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{H}$, Rocaglaol



6 cyclorocaglamide

图1 含环戊烷并苯呋喃结构的化学成分

2.2 细胞毒活性试验 以溶剂对照处理肿瘤细胞为对照组, 当样品溶液质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, 化合物(1~6)对肺癌细胞株 A-549 和乳腺癌细胞株 MCF-7 的抑制作用如表 1 所示, 化合物(1~5)对肺癌细胞株 A-549 和乳腺癌细胞株 MCF-7 显示抑制活性。

表1 化合物(1~6)对癌细胞株 A-549 和 MCF-7 的抑制作用

化合物	A-549 抑制率/%	MCF-7 抑制率/%
1	67.1	47.5
2	27.9	38.6
3	11.8	10.3
4	24.7	32.2
5	45.5	68.6
6	-	-

3 结论

试验从米仔兰枝叶中分离得到 6 个包含环戊烷并苯呋喃结构的化合物, 并通过 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 和 MS 等波谱技术鉴定了化合物的结构。其中, 化合物 2 和 6 在米仔兰植物中首次被发现。在低浓度下, 化合物(1~5)对肺癌细胞株 A-549 和乳腺癌细胞株 MCF-7 显示抑制活性。其中, 化合物 1~5 具有较好的细胞毒活性。

参考文献

- [1] 李晓明, 刘健美, 张翼, 等. 米仔兰化学成分研究[J]. 中草药, 2007, 38(3): 356-357.
- [2] XIE B J, YANG S P, CHEN H D, et al. Agladulops A-E, triterpenoids from *Aglaiia duperreana*[J]. J Nat Prod, 2007, 70(9): 1532-1535.
- [3] NANTIYA J, HARALD G, OTMAR H, et al. Flavaglines and triterpenoids from the leaves of *Aglaiia forbesii*[J]. Phytochem, 2008, 69(1): 206-211.

- [4] ZHANG L, ZHANG J H, YANG S M, et al. Chemical constituents from the leaves *Aglaia perviridies* [J]. *Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(3): 213–215.
- [5] KIM S, SALIM A A, SWANSON S M, et al. Potential of cyclopenta [b] benzofurans from *Aglaia* species in cancer chemotherapy [J]. *Anti - Cancer Agents Med Chem*, 2006, 6(4): 319–345.
- [6] PROKSCH P E, DRADA R A, EBEL R, et al. Chemistry and biological activity of rocaglamide derivatives and related compounds in *Aglaia* species (Meliaceae) [J]. *Curr Org Chem*, 2001, 5(9): 923–938.
- [7] ZHU J Y, LAVRIK I N, MAHLKNECHT U, et al. The traditional chinese herbal compound rocaglamide preferentially induces apoptosis in leukemia cells by modulation of mitogen - activated protein kinase activities [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(8): 1839–1846.
- [8] ANGELA A S, ALISON D P, HEE-BYUNG C, et al. Ponapensin, a cyclopenta [bc] benzopyran with potent NF - κ B inhibitory activity from *Aglaia ponapensis* [J]. *Bioorgan Med Chem Lett*, 2007, 17(1): 109–112.
- [9] PROKSCH P, GLAISI M, TREIBER M K, et al. Rocaglamide derivatives are immunosuppressive phytochemicals that target NF - AT activity in T Cells [J]. *J Immunol*, 2005, 174(11): 7075–7084.
- [10] KOUL O, SINGH G, SINGH R, et al. Bioefficacy and mode - of - action of aglaroxin A from *Aglaia elaeagnoides* (syn. *A. roxburghiana*) against *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura* [J]. *Ent Exper Appl*, 2005, 114(3): 197–204.
- [11] 张玲, 张建辉, 杨淑敏, 等. 碧绿米仔兰叶的化学成分 [J]. *上海大学学报: 自然科学版*, 2010, 16(5): 378–381.
- [12] 杨四海, 曾水云, 郑烈生. 米仔兰枝条中杀虫活性成分研究 [J]. *中草药*, 2004, 35(11): 1207–1211.
- [13] 蔡小华, 谢兵, 冯育军. 米仔兰中环戊烷并苯咪唑化学成分分析 [J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(23): 11571–11572, 11590.
- [14] JANPRASERT J, SATASOOK C, SUKUMALANAND P, et al. Rocaglamide, a natural benzofuran insecticide from *Aglaia odorata* [J]. *Phytochem*, 1993, 32(1): 67–69.
- [15] NUGROHO B W, EDRADA R A, GÜSSREGEN B, et al. Insecticidal rocaglamide derivatives from *Aglaia duppreana* [J]. *Phytochem*, 1997, 44(8): 1455–1461.
- [16] NUGROHO B W, EDRADA R, WRAY A, et al. An insecticidal rocaglamide derivatives and related compounds from *Aglaia odorata* (Meliaceae) [J]. *Phytochem*, 1999, 51(3): 367–376.
- [17] BRINGMANN G, MÜHLBACHER J, MESSER K, et al. Cyclorocaglamide, the first bridged cyclopentatetrahydrobenzofuran, and a related “open chain” rocaglamide derivative from *Aglaia oligophylla* [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(1): 80–85.
- [18] 李杰, 刘玉琴. MTT 法肿瘤研究中的改良和应用进展 [J]. *中国肿瘤临床*, 1998, 25(4): 312.

(上接第 4317 页)

15 份样品中, 羟基红花黄色素 A 的含量为 2.4% ~ 2.6%, 变化范围为 0.2%; 山奈素含量为 0.083% ~ 0.085%, 变化范围为 0.002%。中国药典 2010 版 I 部规定红花中羟基红花黄色素 A 和山奈素含量限度分别为不低于 1.0% 和 0.050%。在所测的 15 份样品中, 羟基红花黄色素 A 和山奈素含量均符合中国药典 2010 版 I 部规定。

表 2 不同采收时段红花指纹图谱相似度分析结果

样品	相似度	样品	相似度	样品	相似度
S2	0.960	S7	0.954	S12	0.953
S3	0.955	S8	0.953	S13	0.953
S4	0.964	S9	0.952	S14	0.955
S5	0.963	S10	0.953	S15	0.952
S6	0.955	S11	0.953	S16	0.953

(2) 研究采用 HPLC 的方法, 同时以中国药品生物制品检定所提供的标准红花指纹图谱为对照, 对不同时段采集的红花进行了色谱分析。试验结果表明, 15 份样品的指纹图谱与对照图谱相比较, 主要峰群的整体图貌基本一致, 特征指纹峰的相对保留时间一致; 与对照指纹图谱经过相似度评价, 相似度均达到 0.95 以上, 说明不同时段采集的红花样品质量之间无较大差别。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 中国医药科

- 技出版社, 2010: 141.
- [2] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明, 等. 不同栽培种群红花的孢粉特征、同工酶谱及化学成分含量 [J]. *中国药学杂志*, 1999, 34(11): 728–730.
- [3] 王若菁, 杨滨. 红花的化学成分及质量标准研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2007, 13(5): 65–69.
- [4] 郭美丽, 张汉明, 张芝玉. 红花本草考证 [J]. *中药材*, 1996, 19(4): 202–203.
- [5] 张丽范, 于美霞. 红花注射液治疗冠心病心肌缺血的临床观察 [J]. *心血管康复医学杂志*, 2002, 11(4): 455–456.
- [6] 夏玉叶, 闵暘. 羟基红花黄色素 A 对脑循环障碍影响的实验研究 [J]. *中国药理通讯*, 2004, 21(3): 6.
- [7] 胡书群, 张光毅, 赵文君. 红花对脑缺血 $Ca^{2+}/Cam^2PK II$ 活性抑制作用的影响 [J]. *徐州医学院学报*, 1995, 15(3): 225–228.
- [8] 赵钢, 王安虎. 红花的资源及药用价值 [J]. *中国野生植物资源*, 2004, 23(3): 24.
- [9] 郭美丽, 张汉明, 张芝玉, 等. 不同栽培种群红花的活血化瘀作用比较 [J]. *第二军医大学学报*, 1999, 20(1): 27–29.
- [10] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明, 等. 不同栽培种群红花各器官的组织构造和化学成分含量 [J]. *第二军医大学学报*, 1999, 20(7): 441–444.
- [11] 张戈, 郭美丽, 张汉明, 等. 不同种质红花药材的高效液相色谱法指纹图谱研究 [J]. *第二军医大学学报*, 2006, 27(3): 280–283.
- [12] 王若菁, 杨滨, 付梅红. 红花药材的质量评价 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(22): 2642–2646.
- [13] 赵小磊, 龚立雄, 王林, 等. 河南产区红花药材最佳采收期的研究 [J]. *中医学报*, 2010, 149(25): 704–705.
- [14] 王林, 龚立雄, 刘超, 等. 一日内不同时段采收对红花质量的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2006, 13(2): 38–39.
- [15] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明, 等. 采收期和加工方法对红花质量的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 1999, 20(8): 535–537.
- [16] 郭美丽, 张芝玉, 张汉明. 红花干物质和化学成分含量动态变化规律研究 [J]. *中草药*, 1999, 30(2): 104–106.
- [17] 田兰, 吴桂荣, 王岩. 新疆塔城地区额敏县红花的品质研究 [J]. *中国药业*, 2007, 16(1): 5–7.