

沙煲暗罗的化学成分(I)

汪刘凯,吴寿远,郑彩娟,宋小平*,陈光英,李小宝,陈晓红

(海南师范大学省部共建-热带药用植物化学教育部重点实验室,化学与化工学院,海口 571158)

[摘要] 目的:研究沙煲暗罗的化学成分。方法:采用 95% 乙醇提取,硅胶柱层析,Sephadex LH-20 及重结晶等方法从沙煲暗罗茎和叶中分离化学成分,并根据光谱数据和理化性质确定各化合物的结构。结果:分离获得了 8 个化合物,其中生物碱类化合物为 isooncodine (1), pendulamine A (2), 甾体类化合物为 stigmasta-4-ene-3,6-dione (3), β -谷甾醇(4), 豆甾醇(5), 其他化合物为对苯二酚(6), 香草醛(7), 十八碳二烯酸(8)。结论:所有化合物均为首次从该属植物中分离得到,抗菌活性测试结果表明,化合物 3 对大肠埃希菌(*Escherichia coli*)有抑制作用,其最小抑菌浓度(MIC)值达到 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;抗肿瘤活性测试结果表明,生物碱类化合物 1 对小鼠黑色素瘤细胞(B16F10)和肺癌肿瘤细胞(A-549)具有一定抑制活性,半抑制率(IC₅₀)分别为 78.6,49.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

[关键词] 沙煲暗罗;化学成分;抗菌活性;抗肿瘤活性

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0117-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170117

Chemical Constituents from *Polyalthia oblique* (I)

WANG Liu-kai, WU Shou-yuan, ZHENG Cai-juan, SONG Xiao-ping*,
CHEN Guang-ying, LI Xiao-bao, CHEN Xiao-hong

(Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hainan Normal University, Haikou 571158, China)

[Abstract] **Objective:** This study was carried out to study the chemical constituents from of *Polyalthia oblique*. **Method:** Compounds from 95% ethanolic extract of *P. oblique* were isolated by column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, together with recrystallization, and their structures were identified by their physical characteristics and spectral features. **Result:** Eight compounds were isolated from *P. oblique*, and identified as alkaloids isooncodine (1), pendulamine A (2), three steroids stigmasta-4-ene-3, 6-dione (3), β -sitosterol (4), stigmasterol (5), and three other compounds including hydroquinone (6), vanillin (7), octadecadienoic acid (8). **Conclusion:** All compounds were isolated from *P. oblique* for the first time. Compound 3 showed inhibition activity against *Escherichia coli*, with minimal inhibitory concentrations (MIC) value of $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Compound 1 showed weak inhibition activities against SPC-A-1 and A-549 tumor cells, with IC₅₀ values of 78.6, 49.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

[Key words] *Polyalthia oblique*; chemical constituents; antimicrobial activity; antitumor activity

沙煲暗罗是番荔枝科暗罗属植物,该属植物全世界约 120 种,主要分布于东半球的热带及亚热带地区,包括马来西亚、菲律宾、印度、斯里兰卡等地区^[1]。该属植物在民间已作药用,具有行气止痛、

行气散结的功效,可以治气滞腹痛、胃疼、痛经、梅核气等。我国有 17 种,主要分布于云南、广东、广西、海南及台湾,其中沙煲暗罗与海南暗罗为我国特有种,仅分布于海南^[2]。国内外学者对暗罗属植物的

[收稿日期] 20140314(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(21166009,81160391,81360478);海南省自然科学基金项目(211015)

[第一作者] 汪刘凯,在读硕士,从事天然产物化学研究,Tel:13876240115, E-mail:wangliukaifly@163.com

[通讯作者] *宋小平,教授,从事天然产物化学研究,Tel:0898-65884995, E-mail:sxp628@126.com

化学成分进行了研究,从中主要得到生物碱类、萜类、黄酮类等化合物^[3-5],其中部分化合物具有良好的生物活性,Kanokmedhaku S 等从细基丸 *Polyalthia cerasoides*^[6] 中得到了 3 个生物碱类化合物 bidebiline E, codamine 和 laudanidine,这些化合物对恶性疟原虫 *Plasmodium falciparum* 具有抗疟作用,其 IC₅₀ 分别为 4.2, 4.2, 7.0 mg·L⁻¹; 吕子明等从陵水暗罗^[7] 中分离得到了 2 个生物碱番荔枝宁和千金藤宁碱,这 2 个化合物对肝癌细胞(Bel7402),人胃癌细胞(BGC823),人结肠癌细胞(HTC-8)和抗紫杉醇耐药株(A2780)有很好的抑制作用,其 IC₅₀ 值分别为 8.741, 9.457, 7.643, 10.114, 8.946, 9.437, 8.978, 6.575, 7.433, 8.411 mg·L⁻¹。而在本课题组以前的研究工作中,已经从沙煲暗罗的根中分离得到 14 个化合物^[8],为进一步对沙煲暗罗植物进行研究与开发,本研究采用硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱、制备薄层色谱等分离技术首次对沙煲暗罗枝与叶进行了研究,分离得到 8 个化合物,并对分离得到的化合物进行了抗菌和抗肿瘤活性测试。

1 仪器和材料

Bruker AV-400 MHz 型超导核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司),YOKO-ZX 型紫外分析暗箱(武汉药科新技术开发有限公司),BSZ-100 型自动部分收集器(上海青浦沪西仪器有限公司),Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences 公司),SB-1100 型旋转蒸发器(日本 EYELA 公司),所用试剂均为分析纯(西陇化工股份有限公司)。沙煲暗罗枝叶于 2012 年 6 月采自海南昌江县霸王岭自然保护区,经海南师范大学生命科学院钟琼芯教授鉴定为沙煲暗罗 *P. oblique* 的枝和叶,标本存于海南师范大学热带药用植物化学教育部重点实验室。

2 提取与分离

干燥的沙煲暗罗枝和叶(14 kg)粉碎,用 95% 乙醇回流提取 3 次,每次 7 d,合并提取液,减压蒸馏回收乙醇,得乙醇总浸膏(1 275 g)。将浸膏分散于蒸馏水中,依次采用石油醚、乙酸乙酯梯度萃取,得各部位浸膏。将石油醚部位(780 g)通过硅胶色谱柱(200~300 目)层析,依次用石油醚-乙酸乙酯(100:0~0:100)进行梯度洗脱,洗脱液按 1 000 mL 等量接收,然后浓缩收集的流分。根据 TLC 检测结果,分成 9 组分(1~9),组分 2 重结晶得到化合物 3 (7 mg),4(22 mg),5(27 mg),组分 3 以石油醚-乙酸乙酯(5:1)进行梯度洗脱,洗脱得到化合物 6(11 mg),7(12 mg),8(5.6 mg),组分 7 经过 Sephadex

LH-20 以三氯甲烷-甲醇(2:3),然后以三氯甲烷-乙酸乙酯(5:1)为展开剂得到化合物 1(15 mg)和 2(18 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色针状晶体(CHCl₃)。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 8.28 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-3), 7.29 (1H, s, H-5), 7.27 (1H, s, H-8), 7.07 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-2), 3.97 (3H, s, H-6-OMe), 2.61 (3H, s, H-1-Me); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 148.5 (C-1), 126.6 (C-2), 152.3 (C-3), 166.0 (C-4a), 139.0 (C-4b), 108.1 (C-5), 155.0 (C-6), 152.3 (C-7), 109.1 (C-8), 126.6 (C-8a), 193.2 (C-9), 128.5 (C-9a), 56.8 (6-OMe), 17.0 (1-Me)。以上数据与文献[9]对照基本一致,故鉴定为 isooncodine。

化合物 2 黄色晶体(CHCl₃)。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7.05 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-1), 6.89 (1H, dd, J = 8.2, 1.2 Hz, H-2), 6.78 (1H, br s, H-4), 6.65 (1H, s, H-12), 4.97 (1H, dd, J = 10.4, 5.6 Hz, H-6β), 4.72 (1H, dd, J = 12.8, 6 Hz, H-14), 4.00 (3H, s, H-9-OCH₃), 3.90 (3H, s, H-11-OCH₃), 3.02 (1H, dd, J = 15.2, 8.4 Hz, H-13α), 2.91 (1H, dd, J = 10.4, 5.6 Hz, H-6α), 2.83 (1H, m, H-5β), 2.78 (2H, m, H-5α and H-13β); ¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 118.3 (C-1), 112.0 (C-2), 149.2 (C-3), 110.9 (C-4), 126.9 (C-4a), 29.4 (C-5), 39.0 (C-6), 162.7 (C-8), 123.0 (C-8a), 145.7 (C-9), 147.6 (C-10), 144.7 (C-11), 123.0 (C-12), 128.6 (C-12a), 38.6 (C-13), 55.1 (C-14), 130.9 (C-14a), 62.6 (C-9-OCH₃), 56.2 (C-11-OCH₃), 以上数据与文献[10]对照基本一致,故鉴定为 pendulamine A。

化合物 3 无色针状晶体(CHCl₃)。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.68 (1H, dd, J = 15.6, 2.4 Hz, H-7α), 2.46 (1H, m, H-2α), 2.08 (1H, m, H-12), 2.03 (1H, dd, J = 14.8, 8 Hz, H-7β), 1.91 (3H, m, H-1α, H-8, H-16β), 1.66 (1H, m, H-25), 1.16 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d, J = 5.6 Hz, H-21), 0.87 (3H, t, J = 7.2 Hz, H-29), 0.84 (3H, d, J = 7.6 Hz, H-27), 0.82 (3H, d, J = 7.6 Hz, H-26), 0.72 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 202.5 (C-6), 199.6 (C-3), 161.3 (C-5), 125.6 (C-4), 56.7 (C-14), 56.0 (C-17),

51.1 (C-9), 47.0 (C-7), 46.0 (C-24), 42.7 (C-13), 40.0 (C-10), 39.3 (C-12), 36.2 (C-20), 35.7 (C-1), 34.4 (C-2), 34.1 (C-2), 33.9 (C-22), 29.3 (C-25), 28.2 (C-16), 26.2 (C-23), 24.1 (C-15), 23.2 (C-28), 21.0 (C-11), 20.0 (C-27), 19.1 (C-26), 18.9 (C-21), 17.6 (C-19), 12.0 (C-29), 11.9 (C-18), 以上数据与文献[11]报道基本一致,故鉴定为 *stigmasta-4-ene-3,6-dione*。

化合物 4 白色针晶 (CHCl_3), mp 136 ~ 137 °C, EI-MS (m/z): 414 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。与 β -谷甾醇对照品对比分析,多种展开剂展开 Rf 值相同,浓硫酸-香兰素显色,斑点的形状和颜色相同,与 β -谷甾醇对照品混合熔点不下降。故鉴定化合物为 β -谷甾醇。

化合物 5 白色片状晶体 (CHCl_3), mp 140 ~ 142 °C, EI-MS (m/z): 412 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。NMR 和 EI-MS 数据与对照品豆甾醇的一致^[12],故鉴定该化合物为豆甾醇。

化合物 6 白色晶体, EI-MS (m/z): 108 $[\text{M} - 2\text{H}]^-$ 。¹H-NMR (Acetone, 400 MHz) δ : 6.95 (4H, s, H-2, 3, 5, 6); ¹³C-NMR (Acetone, 100 MHz) δ : 150.3 (C-1, 4), 115.7 (C-2, 3, 5, 6), 与文献[13]对比基本一致,故确定化合物为对苯二酚。

化合物 7 白色晶体, mp 80 ~ 82 °C, EI-MS (m/z): 152 $[\text{M} + \text{H}]^+$, ¹H-NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 9.82 (H, s, -CHO), 7.41 (2H, m, H-2, 6), 7.04 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.28 (1H, s, -OH), 3.96 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 191.0 (-CHO), 151.8 (C-4), 147.2 (C-3), 130 (C-1), 127.6 (C-6), 114.5 (C-5), 108.9 (C-2), 56.2 (-OCH₃), 与文献[14]对比基本一致,故确定为香草醛。

化合物 8 无定形粉末, EI-MS (m/z): 279 $[\text{M} - \text{H}]^+$ 。¹H-NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 5.36 (4H, m, H-9, 10, 12, 13), 2.78 (2H, m, H-11), 2.36 (2H, m, H-2), 2.04 (4H, m, H-8, 14), 1.60 (2H, m, H-3), 1.38 (6H, m, H-7, 15, 17), 1.29 (8H, H-4, 5, 6, 16), 0.88 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 180 (C-1), 32.0 (C-2), 24.7 (C-3), 27.3 (C-4), 29.1 (C-5), 29.3 (C-6), 29.4 (C-7), 29.7 (C-8), 130.3 (C-9), 127.9 (C-10), 34.1 (C-11), 128.1 (C-12), 130.1 (C-13), 29.6 (C-14), 29.2 (C-15), 29.6 (C-16), 22.7 (C-17),

14.2 (C-18), 以上数据与文献[15]报道的数据基本一致,故确定为十八碳二烯酸。

4 活性测试

4.1 抗菌测试 采用微量稀释法,测定微生物的最小抑菌浓度 (MIC)。应用营养肉汤培养,先将样品用 DMSO 配制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,放置在灭菌的小离心管中。将液体培养的细菌菌种用培养液进行稀释,稀释度为 1:1 000。用无菌的移液器将稀释的液体菌种 198 μL 加入到 2 μL 各种样品溶液中,每个样品设 2 个平行孔,震荡混合后 37 °C 培养 24 h,用酶标仪 630 nm 测吸光度进行粗筛。将粗筛效果好的样品溶液在 96 孔微量稀释板^[16]作二倍递减浓度稀释,分装于微量稀释板孔内或用微量加液器直接在稀释板孔内作二倍稀释,然后接种稀释菌液,其中留一列孔作为药液对照,另一孔仅加培养基和菌液作为菌对照。供试细菌:蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus*, 大肠埃希菌 *Escherichia coli*, 藤黄八叠球菌 *Micrococcus luteus*, 四联球菌 *M. tetragenus*, 白色葡萄球菌 *Staphylococcus albus* 和金黄色葡萄球菌 *S. aureus*。试验完毕后,用微量搅拌器震荡混匀后置 37 °C 温培养 24 h,用酶标仪 630 nm 测吸光度 (A)。能抑制试验菌生长的最低浓度,即为该微生物的最小抑菌浓度,选取环丙沙星为阳性对照。本实验对所有化合物进行抗菌活性测试,结果表明只有化合物 3 对 *E. coli* 具有一定的抑制作用,其 MIC 值达到 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

4.2 抗肿瘤活性测试 MTT^[17]法评价沙煲暗罗化合物对肿瘤细胞增殖抑制作用。将对数生长期的小鼠黑色素瘤细胞 (B16F10) 和肺癌肿瘤细胞 (A549) 配制细胞悬液,分别接种于 96 孔培养板;细胞贴壁后分别加入用 PBS 配制的浓度梯度的 (0.1, 1, 5, 10, 50, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 6 个浓度) 20 μL 化合物 1 ~ 8。每组设 5 个复孔,同时设空白对照和溶媒 (DMSO) 对照,阳性对照为表阿霉素,置于 37.0 °C、5% CO₂、饱和湿度条件下,培养 44 h 后,每孔加入 50 μL MTT 溶液 ($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, PBS 配制),作用 4 h 后弃上清,每孔加入 150 μL DMSO,震荡 10 min,在酶联免疫检测仪上选择 570 nm 波长处测 A,结果表明生物碱类化合物 1 对小鼠黑色素瘤细胞 (B16F10) 和肺癌肿瘤细胞 (A-549) 具有一定抑制活性,IC₅₀ 分别为 78.6, 49.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

5 讨论

本课题首次对沙煲暗罗的茎和叶进行化学成分研究,分离得到了 2 个生物碱类化合物、3 个甾体类

化合物以及3个其他类化合物,所有化合物均为首次从该属植物分离得到。抗菌活性实验表明,甾体类化合物**3**对*E. coli*具有一定的活性,抗肿瘤活性实验表明,生物碱类化合物**1**对B16F10和A-549肿瘤细胞具有一定的抑制活性。该研究为沙煲暗罗资源的开发利用和药效等各项研究工作的开展提供了一定的理论依据。

[参考文献]

[1] Lu Z, Zhang Q, Chen R, et al. Aporphine alkaloids from branches and leaves of *Polyalthia nemoralis* [J]. *Chi J Chin Mater Med*, 2009, 34 (18):2343.

[2] 中国科学院华南植物研究所. 海南植物志[M]. 北京:科学出版社, 1964:247.

[3] Ma X, Lee I S, Chai H B, et al. Cytotoxic clerodanedi-terpene from *Polyalthia barnesii* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37 (6):1659.

[4] 姚建忠, 梁华清, 廖时董. 陵水暗罗活性成分研究[J]. *药学报*, 1994, 11(3), 845.

[5] Faizi S, Khan R A, Azher S, et al. Antimicrobial activity of roots of *Polyalthia longifolia* var *pendula* [J]. *Planta Med*, 2003, 66 (5):350.

[6] Kanokmedhakul S, Kanokmedhakul K, Lekphrom R. Bioactive constituents of the roots of *Polyalthia cerasoides* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70 (9):1536.

[7] 吕子明, 张庆建, 陈若云, 等. 陵水暗罗枝、叶中的化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36 (8):1024.

[8] Wang J H, Ji M H, Shu H M, et al. Chemical

constituents from the roots of *Polyalthia obliqua* [J]. *Chin J Nat Med*, 2012, 10(4):303.

[9] Wu Y C, Duh C Y, Wang S K, et al. Two new natural azafluorene alkaloids and a cytotoxic aporphine alkaloid from *Polyalthia longifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53 (5), 1327.

[10] Shaheen F, Rashid A K, Soobia A. New antimicrobial alkaloids from the roots of *Polyalthia longifolia* var. *pendula* [J]. *Planta Med*, 2003, 69 (4):350.

[11] Shen C C, Syu W J, Li S Y, et al. Antimicrobial activities of naphthazarins from *Arnebia euchroma* [J]. *J Nat Prod*, 2002 65 (12):1857.

[12] 李路军, 杜鹏, 孙珂焕, 等. 华中枸骨叶的化学成分及其肿瘤细胞毒作用 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38 (3):354.

[13] 宋亚玲, 封智兵, 程永现, 等. 木瓜化学成分的研究 [J]. *西北植物学报*, 2007, 27 (4):0831.

[14] 王峰, 方振峰. 安息香化学成分研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18 (17):89.

[15] 王岳峰, 耿耘, 朱利平. 峨参根化学成分研究 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37 (23):11001.

[16] Ling S K, Komorita, Tanaka T. Sulfur-containing bis-iridoid glucosides and iridoid glucosides from *Saprosma cortechinii* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65 (5):656.

[17] 陈陵际, 韩家娴, 杨蔚怡, 等. 灵芝精粉和孢子粉混合物抑制肿瘤细胞生长的实验研究 [J]. *癌症*, 2002, 21 (12):1341.

[责任编辑 邹晓翠]