

小叶臭黄皮咪唑生物碱化学成分及其抗肿瘤活性研究

彭文文¹, 刘欣媛², 曾广智³, 谭宁华³

1. 江西农业大学 江西省天然产物与功能食品重点实验室, 江西 南昌 330045

2. 江西农业大学附属医院, 江西 南昌 330045

3. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201

摘要: **目的** 研究小叶臭黄皮 *Clausena excavata* 根的化学成分及抗肿瘤活性。 **方法** 采用硅胶、RP-18 和 HPLC 等色谱技术分离纯化, 根据理化常数和波谱数据鉴定化合物的结构, 采用 SRB 法测定化合物 **1**、**2**、**7**、**8**、**10** 的细胞毒活性。 **结果** 从小叶臭黄皮根的甲醇提取物中分离得到 13 个咪唑生物碱, 分别鉴定为 2,3-二甲氧基-3-羧基咪唑生物碱 (**1**)、1-羟基-3-甲酸甲酯咪唑生物碱 (**2**)、7-羟基-3-醛基咪唑生物碱 (**3**)、2,7-二甲氧基-3-甲酸甲酯咪唑生物碱 (**4**)、7-羟基-3-甲酸甲酯咪唑生物碱 (**5**)、2-羟基-3-醛基咪唑生物碱 (**6**)、1-羟基-3-醛基咪唑生物碱 (**7**)、2,3-二羟基-3-醛基咪唑生物碱 (**8**)、3-醛基咪唑生物碱 (**9**)、6-甲氧基-3-醛基咪唑生物碱 (**10**)、7-甲氧基-3-甲酸甲酯咪唑生物碱 (**11**)、2-甲氧基-3-羧基咪唑生物碱 (**12**)、1,6-二羟基-3-醛基咪唑生物碱 (**13**)。 **结论** 化合物 **9**、**10**、**12** 为首次从该植物中分离得到。化合物 **1**、**2**、**7**、**8**、**10** 对 3 种人体肿瘤细胞 (A549、HeLa 和 BGC-823) 均有不同程度的杀伤作用, IC₅₀ 为 8.53~19.87 μg/mL。

关键词: 小叶臭黄皮; 3-醛基咪唑生物碱; 6-甲氧基-3-醛基咪唑生物碱; 2-甲氧基-3-羧基咪唑生物碱; 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)06-0886-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.06.005

Carbazole alkaloids from *Clausena excavata* and their antitumor activity

PENG Wen-wen¹, LIU Xin-yuan², ZENG Guang-zhi³, TAN Ning-hua³

1. Jiangxi Key Laboratory of Natural Products and Functional Food, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

2. Hospital in Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

3. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the roots of *Clausena excavata* (Rutaceae). **Methods** The compounds were isolated and purified by means of column chromatographies including silica gel, RP-18, and HPLC. Compound structures isolated were determined on the basis of spectroscopic data. **Results** Thirteen carbazole alkaloids clausine K (**1**), clausine E (**2**), 3-formyl-7-hydroxycarbazole (**3**), clausine H (**4**), clausine M (**5**), mukona (**6**), *O*-demethylmurrayanine (**7**), clausine O (**8**), 3-formylcarbazole (**9**), 3-formyl-6-methoxy carbazole alkaloid (**10**), clausine C (**11**), 2-methoxy-3-carboxylic acid-carbazole alkaloid (**12**), and clausine Z (**13**) were isolated from the roots of *C. excavata*. **Conclusion** Compounds **9**, **10**, and **12** are isolated from this plant for the first time. Compounds **1**, **2**, **7**, **8**, and **10** are tested for their cytotoxicities against A549, Hela, and BGC-823 cancer cell lines. The results show that they exhibit the cytotoxicity against A549, Hela, and BGC-823 with the IC₅₀ values of 8.53—19.87 μg/mL.

Key words: *Clausena excavata* Burm. f.; 3-formylcarbazole; 3-formyl-6-methoxy carbazole alkaloid; 2-methoxy-3-carboxylic acid-carbazole alkaloid; cytotoxicity

小叶臭黄皮 *Clausena excavata* Burm. f. 是芸香科 (Rutaceae) 黄皮属 *Clausena* Burm. f. 植物, 主要分布在越南、老挝、柬埔寨、缅甸、印度和我国南方地区^[1-2]。其根、叶入药, 用于治疗感冒发烧、痢疾、肠炎、尿道炎等^[3]。该植物所含化学成分较

为丰富, 本课题组前期已经报道了其香豆素^[4]、生物碱^[5]、倍半萜^[6]及苯环衍生物^[7]。本实验对小叶臭黄皮根的化学成分进行进一步的研究, 从中分离了 13 个咪唑生物碱, 分别鉴定为 2,3-二甲氧基-3-羧基咪唑生物碱 (clausine K, **1**)、1-羟基-3-甲酸甲酯咪

收稿日期: 2015-11-26

基金项目: 江西省博士后科研基金 (06292023); 江西农业大学博士科研启动基金项目 (09004507)

作者简介: 彭文文 (1977—), 陕西西安人, 博士, 讲师, 主要从事植物化学及生物活性研究。E-mail: pengwenwen123@sina.com

唑生物碱 (clausine E, 2)、7-羟基-3-醛基咔唑生物碱 (3-formyl-7-hydroxyl-carbazole, 3)、2,7-二甲氧基-3-甲酸甲酯咔唑生物碱 (clausine H, 4)、7-羟基-3-甲酸甲酯咔唑生物碱 (clausine M, 5)、2-羟基-3-醛基咔唑生物碱 (mukona, 6)、1-羟基-3-醛基咔唑生物碱 (*O*-demethylmurrayanine, 7)、2,3-二羟基-3-醛基咔唑生物碱 (clausine O, 8)、3-醛基咔唑生物碱 (3-formyl-carbazole, 9)、6-甲氧基-3-醛基咔唑生物碱 (3-formyl-6-methoxy-carbazole alkaloid, 10)、7-甲氧基-3-甲酸甲酯咔唑生物碱 (clausine C, 11)、2-甲氧基-3-羧基咔唑生物碱 (2-methoxy-3-carboxylic acid-carbazole alkaloid, 12)、1,6-二羟基-3-醛基咔唑生物碱 (clausine Z, 13)。其中 9、10、12 为首次从该植物中分离得到, 化合物 1、2、7、8、10 对 3 种人体肿瘤细胞 (A549、HeLa 和 BGC-823) 均有不同程度的杀伤作用, IC_{50} 为 8.53~19.87 $\mu\text{g/mL}$ 。

1 仪器与材料

Bruker AM-400 型和 DRX-500 型核磁共振波谱仪 (德国布鲁克公司); VG Autospec-3000 质谱仪 (英国 VG 公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司), Zorbax Eclipse XDB-C18 色谱柱 (安捷伦, 250 mm $\times$ 9.4 mm, 2 mL/min); 柱色谱硅胶 (100~200, 200~300 目)、薄层色谱硅胶板均为青岛裕民源硅胶试剂厂产品; 反相材料 Lichroprep RP₁₈ (40~63 μm) 为 Merck 公司产品; 所用试剂均为化学纯或分析纯。

小叶臭黄皮风干的根于 2010 年采自云南省西双版纳, 植物标本由中国科学院昆明植物研究所税玉民研究员鉴定为芸香科黄皮属植物小叶臭黄皮 *Clausena excavata* Burm. f.。

2 提取与分离

风干的小叶臭黄皮根 13 kg, 经粉碎后, 用 95% 的甲醇 (20 L) 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下回流提取 3 次, 每次 3 小时。提取液合并后经减压浓缩得到总浸膏。将总浸膏加水充分悬浮后, 依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇充分萃取, 等体积各萃取 3 次, 得到醋酸乙酯部分 (596 g)。醋酸乙酯部分用氯仿-甲醇混合溶剂溶解吸附于等量硅胶 (100~200 目) 上, 在室温下挥干溶剂, 用 4 kg 100~200 目硅胶湿法装柱并干法上样, 以氯仿-甲醇梯度 (100:0、95:5、9:1、8:2、7:3、1:1、0:100) 洗脱。用 TLC 进行检查, 合并相同馏份, 共得到 5 个部分: Fr. 1~5。Fr. 2 (61 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮梯度 (5:

1、4:1、3:1、2:1、1:1、0:1) 洗脱, 用 TLC 检测合并得到 3 个部分 Fr. 2-1~Fr. 2-3。Fr. 2-2 经反相 RP₁₈ 色谱柱, 以甲醇-水 (40%~100%) 梯度洗脱, 在经反复硅胶柱色谱, 最后经制备和半制备 HPLC 纯化得到化合物 4 (41 mg)、13 (15 mg)。Fr. 3 (90 g) 经 200~300 目硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮梯度 (4:1、3:1、2:1、1:1、0:1) 洗脱, 用 TLC 检测合并得到 4 个部分 Fr. 3-1~Fr. 3-4。Fr. 3-1 经反复硅胶柱色谱, 再经过制备和半制备 HPLC 得到化合物 9 (10 mg)、10 (11 mg)。Fr. 3-2 经反相 RP₁₈ 色谱柱, 以甲醇-水 (30%~100%) 梯度洗脱, 再经过制备和半制备 HPLC 得到化合物 5 (21 mg)、11 (8 mg)。Fr. 3-4 经过制备和半制备 HPLC 得到化合物 1 (35 mg)、2 (33 mg)、3 (16 mg)。Fr. 4 (45 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (4:1、3:1、2:1、1:1、0:1) 梯度洗脱, 用 TLC 检测合并得到 3 个部分 Fr. 4-1~Fr. 4-3。Fr. 4-1 经反相 RP₁₈ 色谱柱, 以甲醇-水 (30%~100%) 梯度洗脱, 再经过制备和半制备 HPLC 得到化合物 6 (14 mg)、12 (10 mg)。Fr. 4-2 经过制备和半制备 HPLC 得到化合物 7 (36 mg)、8 (17 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色粉末, $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_4$, ESI-MS m/z 294 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 12.34 (COOH), 9.16 (1H, d, J = 7.9 Hz, NH), 8.71 (1H, s, H-4), 8.10 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 7.56 (1H, s, H-1), 7.21 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 7.05 (1H, d, J = 8.5, 2.2 Hz, H-6), 3.84 (3H, s, 7-OCH₃), 3.73 (3H, s, 2-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 169.2 (s, COOH), 159.3 (s, C-2), 158.8 (s, C-7), 144.8 (s, C-8a), 143.1 (s, C-1a), 124.6 (d, C-4), 120.9 (d, C-5), 117.9 (s, C-4a), 117.5 (s, C-5a), 114.3 (s, C-3), 108.8 (d, C-6), 96.2 (d, C-8), 94.9 (d, C-1), 56.4 (q, 2-OCH₃), 55.6 (q, 7-OCH₃)。以上数据与文献报道的一致^[8-9], 所以鉴定化合物 1 为 2,3-二甲氧基-3-羧基咔唑生物碱。

化合物 2: 淡黄色粉末, $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_3$, ESI-MS m/z 264 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.31 (1H, d, J = 1.1 Hz, H-4), 8.02 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-5), 7.51 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8), 7.48 (1H, d, J = 1.1 Hz, H-2), 7.37 (1H, t, J = 7.7 Hz, H-7), 7.16 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-6), 3.89 (3H, s, OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 169.9 (s, COOCH₃), 144.1 (s, C-1a), 141.8 (s, C-8a), 134.6 (s, C-1), 127.1 (s, C-3),

125.2 (s, C-5a), 124.8 (d, C-7), 122.1 (d, C-5), 121.2 (d, C-6), 120.5 (d, C-4), 115.7 (d, C-8), 112.4 (d, C-2), 111.3 (d, C-4a), 52.4 (q, COOCH₃)。以上数据与文献报道的一致^[8-9], 所以鉴定化合物 **2** 为 1-羟基-3-甲酸甲酯咔唑生物碱。

化合物 **3**: 淡黄色粉末, C₁₃H₉NO₂, EI-MS m/z 211 [M]⁺。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 10.04 (1H, s, NH), 8.54 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-4), 8.04 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-1), 7.85 (1H, dd, J = 1.5, 8.4 Hz, H-2), 7.55 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 7.01 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.84 (1H, dd, J = 2.1, 8.4 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 192 (s, CHO), 158.6 (s, C-7), 144.8 (s, C-8a), 143.4 (s, C-1a), 129.9 (s, C-3), 126.1 (d, C-5), 124.7 (d, C-4), 123.1 (s, C-4a), 122.2 (s, C-5a), 111.6 (d, C-2), 111.5 (d, C-1), 110.6 (d, C-6), 97.9 (d, C-8)。以上数据与文献报道的一致^[10], 所以鉴定化合物 **3** 为 7-羟基-3-醛基咔唑生物碱。

化合物 **4**: 淡黄色粉末, C₁₆H₁₆NO₄, EI-MS m/z 285 [M]⁺。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 10.34 (1H, brs, NH), 8.40 (1H, s, H-4), 7.94 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-5), 7.10 (1H, s, H-1), 7.02 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.82 (1H, dd, J = 9.0, 2.2 Hz, H-6), 3.90 (3H, s, 2-OCH₃), 3.85 (3H, s, 7-OCH₃), 3.83 (3H, s, CO₂CH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 167.3 (s, CO), 159.5 (s, C-7), 158.7 (s, C-2), 144.5 (s, C-1a), 142.6 (s, C-8a), 123.6 (d, C-4), 120.9 (d, C-5), 117.5 (s, C-5a), 117.0 (s, C-4a), 113.3 (s, C-3), 109.0 (d, C-6), 95.8 (d, C-8), 94.8 (d, C-1), 51.4 (q, COOCH₃), 56.2 (q, 7-OCH₃), 55.6 (q, 2-OCH₃)。以上数据与文献报道的一致^[11], 所以鉴定化合物 **4** 为 2,7-二甲氧基-3-甲酸甲酯咔唑生物碱。

化合物 **5**: 淡黄色粉末, C₁₄H₁₁NO₃, EI-MS m/z 241 [M]⁺。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 10.48 (11H, brs, NH), 8.64 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-4), 8.51 (1H, s, 7-OH), 8.01 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 7.96 (1H, dd, J = 8.4, 1.4 Hz, H-2), 7.46 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-1), 6.97 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.81 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 168.1 (s, CO), 158.2 (s, C-7), 143.8 (s, C-8a), 143.3 (s, C-1a), 126.4 (d, C-2), 124.3 (s, C-3), 122.0 (d, C-5), 121.9 (d, C-4), 121.7 (s, C-4a), 116.9 (s, C-5a), 110.9 (d, C-1), 110.3 (d, C-6), 97.8 (d, C-8), 51.9 (q, 3-COOCH₃)。以上数据与文献报道的一致^[11], 所以鉴定化合物 **5** 为 2-

羟基-3-醛基咔唑生物碱。

化合物 **6**: 淡黄色粉末, C₁₃H₉NO₂, ESI-MS m/z 234 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 10.8 (1H, brs, NH), 9.98 (1H, s, H-4), 8.41 (1H, s, H-1), 7.58 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-5), 7.05 (1H, t, J = 7.7 Hz, H-7), 6.94 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-8), 6.89 (1H, t, J = 7.2 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 196.6 (s, CHO), 161.7 (s, C-2), 146.8 (s, C-1a), 143.9 (s, C-8a), 131.1 (s, C-5a), 128.7 (d, C-4), 125.8 (s, C-4a), 121.9 (d, C-5), 119.0 (d, C-6), 116.2 (s, C-3), 111.9 (d, C-7), 111.8 (d, C-8), 97.4 (d, C-1)。以上数据与文献报道的一致^[9], 所以鉴定化合物 **6** 为 2-羟基-3-醛基咔唑生物碱。

化合物 **7**: 淡黄色粉末, C₁₃H₉NO₂, ESI-MS m/z 234 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 10.80 (1H, brs, NH), 10.00 (1H, s, CHO), 8.26 (1H, s, H-4), 8.21 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5), 7.64 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-8), 7.50 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-6), 7.42 (1H, s, H-2), 7.30 (1H, t, J = 8.1 Hz, H-7); ¹³C-NMR (100 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 191.3 (s, CHO), 144.4 (s, C-1), 141.3 (s, C-8a), 134.8 (s, C-1a), 131.2 (s, C-3), 127.1 (d, C-7), 125.1 (s, C-5a), 124.5 (s, C-4a), 121.3 (d, C-5), 120.8 (d, C-6), 119.2 (d, C-4), 112.7 (d, C-8), 108.3 (d, C-2)。以上数据与文献报道的一致^[8], 所以鉴定化合物 **7** 为 1-羟基-3-醛基咔唑生物碱。

化合物 **8**: 淡黄色粉末, C₁₃H₉NO₃, ESI-MS m/z 250 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 11.42 (1H, s, 2-OH), 10.46 (1H, brs, NH), 9.95 (1H, s, CHO), 8.46 (1H, s, 7-OH), 8.26 (1H, s, H-4), 7.86 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.93 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-8), 6.82 (1H, s, H-1), 6.77 (1H, dd, J = 8.0, 2.4 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ : 195.1 (s, CHO), 160.9 (s, C-2), 158.6 (s, C-7), 147.4 (s, C-8a), 144.1 (s, C-1a), 125.6 (d, C-4), 121.4 (d, C-5), 119.0 (s, C-3), 116.6 (s, C-4a), 115.9 (s, C-5a), 110.6 (d, C-6), 98.6 (d, C-1), 97.2 (d, C-8)。以上数据与文献报道的一致^[8], 所以鉴定化合物 **8** 为 2,3-二羟基-3-醛基咔唑生物碱。

化合物 **9**: 淡黄色粉末, C₁₃H₉NO, ESI-MS m/z 218 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 10.89 (1H, brs, NH), 10.09 (1H, s, CHO), 8.69 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-4), 8.25 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.96 (1H, dd, J = 8.4, 1.4 Hz, H-3), 7.65 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-1), 7.59 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-8), 7.48 (1H, m,

H-6), 7.31 (1H, m, H-7); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 191.9 (s, CHO), 144.6 (s, C-8a), 141.6 (s, C-3), 129.9 (s, C-1a), 127.5 (d, C-4), 127.2 (d, C-5), 124.8 (d, C-7), 124.1 (s, C-5a), 123.9 (s, C-4a), 121.4 (d, C-6), 120.9 (d, C-2), 112.3 (d, C-1), 112.1 (d, C-8)。以上数据与文献报道的一致^[12], 所以鉴定化合物 **9** 为 3-醛基咪唑生物碱。

化合物 **10**: 淡黄色粉末, $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_2$, ESI-MS m/z 248 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 10.93 (1H, brs, NH), 10.04 (1H, s, CHO), 8.32 (1H, s, H-4), 8.19 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1), 7.65 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-8), 7.48 (1H, m, H-2), 7.44 (1H, s, H-5), 7.30 (1H, m, H-7), 4.07 (3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 191.8 (s, CHO), 147.2 (s, C-6), 141.2 (s, C-3), 134.9 (s, C-8a), 131.1 (s, C-1a), 127.2 (d, C-4), 124.4 (s, C-5a), 124.3 (s, C-4a), 121.3 (d, C-2), 120.9 (d, C-7), 120.4 (d, C-8), 112.8 (d, C-1), 104.1 (d, C-5), 56.1 (q, 5-OCH₃)。以上数据与文献报道的一致^[12], 所以鉴定化合物 **10** 为 6-甲氧基-3-醛基咪唑生物碱。

化合物 **11**: 淡黄色粉末, $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_3$, ESI-MS m/z 256 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 8.70 (1H, s, H-4), 8.23 (1H, brs, NH), 8.06 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-2), 7.98 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-5), 7.38 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-1), 6.93 (1H, brd, $J=1.9$ Hz, H-8), 6.90 (1H, dd, $J=8.5, 1.9$ Hz, H-6), 3.96 (3H, s, COOCH₃), 3.90 (3H, s, 7-OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 168.0 (s, CO), 159.6 (s, C-7), 142.3 (s, C-1a), 141.3 (s, C-8a), 126.3 (d, C-2), 123.3 (s, C-4a), 121.9 (d, C-4), 121.5 (s, C-3), 121.4 (d, C-5), 117.1 (s, C-5a), 109.8 (d, C-1), 109.0 (d, C-6), 95.1 (d, C-8), 55.6 (q, 7-OCH₃), 51.9 (q, COOCH₃)。以上数据与文献报道的一致^[12-14], 所以鉴定化合物 **11** 为 7-甲氧基-3-甲酸甲酯咪唑生物碱。

化合物 **12**: 淡黄色粉末, $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_3$, ESI-MS m/z 264 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 10.66 (1H, brs, NH), 8.76 (1H, s, H-4), 8.14 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-8), 7.52 (1H, d, $J=7.9$ Hz, H-5), 7.40 (1H, t, $J=7.6$ Hz, H-7), 7.27 (1H, s, H-1), 7.23 (1H, t, $J=7.9$ Hz, H-6), 4.12 (3H, s, OCH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 166.6 (s, COOH), 158.9 (s, C-2), 145.0 (s, C-1a), 141.6 (s, C-8a), 126.3 (d, C-4), 126.2 (d, C-7), 123.9 (s, C-5a), 120.8 (d, C-5), 120.7 (d, C-6), 118.1 (s, C-4a), 111.8 (d, C-8), 105.1 (s, C-3), 94.5 (d, C-1),

56.7 (q, OCH₃)。以上数据与文献报道的一致^[15], 所以鉴定化合物 **12** 为 2-甲氧基-3-羧基咪唑生物碱。

化合物 **13**: 淡黄色粉末, $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_3$, ESIMS m/z 250 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 10.87 (1H, s, CHO), 9.82 (1H, s, NH), 8.03 (1H, s, H-4), 7.48 (1H, brs, H-5), 7.35 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-8), 7.28 (1H, s, H-2), 6.92 (1H, dd, $J=8.6, 2.3$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 194.1 (d, CHO), 152.4 (s, C-6), 145.1 (s, C-1), 136.7 (s, C-3), 136.0 (s, C-8a), 130.3 (s, C-1a), 125.7 (s, C-5a), 125.1 (s, C-4a), 120.8 (d, C-4), 116.7 (d, C-7), 113.3 (d, C-8), 109.2 (d, C-2), 105.9 (d, C-5)。以上数据与文献报道的一致^[16], 所以鉴定化合物 **13** 为 1,6-二羟基-3-醛基咪唑生物碱。

4 抗肿瘤活性研究

参考文献采用 SRB 法测定化合物 **1**、**2**、**7**、**8**、**10** 对 3 种人体肿瘤细胞株 A549、HeLa 和 BGC-823 的细胞毒活性^[17]。以紫杉醇为阳性对照, 结果如表 1 所示, 化合物 **7** 对 A549、HeLa 和 BGC-823 细胞株均有细胞毒活性, 其 IC₅₀ 值为 13.88~14.52 $\mu\text{g/mL}$; 化合物 **1**、**2**、**8** 对 HeLa 和 BGC-823 细胞株均有细胞毒活性, 其 IC₅₀ 值为 8.53~16.17 $\mu\text{g/mL}$; 化合物 **10** 对 A549 和 HeLa 细胞株均有细胞毒活性, 其 IC₅₀ 值分别为 14.44 $\mu\text{g/mL}$ 和 19.87 $\mu\text{g/mL}$ 。

表 1 化合物 **1**、**2**、**7**、**8**、**10** 的细胞毒活性 ($n=3$)
Table 1 Cytotoxicity of compounds **1**, **2**, **7**, **8**, and **10** ($n=3$)

化合物	IC ₅₀ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)		
	A549	HeLa	BGC-823
1	>20	16.17	12.41
2	>20	12.85	8.53
7	14.07	14.52	13.88
8	>20	14.11	11.88
10	19.87	14.44	>20
紫杉醇	0.02	0.02	0.01

参考文献

- [1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 8 (种子植物) [M]. 北京: 科技出版社, 1997.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [3] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 6 (种子植物) [M]. 北京: 科技出版社, 1995.
- [4] Peng W W, Zheng Y Q, Chen Y S, et al. Coumarins from roots of *Clausena excavata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*,

- 2013, 15(3): 215-220.
- [5] Peng W W, Zeng G Z, Song W W, *et al.* A new cytotoxic carbazole alkaloid and two new other alkaloids from *Clausena excavata* [J]. *Chem Biodiver*, 2013, 10(7): 1317-1321.
- [6] 彭文文, 宋卫武, 黄茂波, 等. 小叶臭黄皮中单萜和倍半萜类成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(9): 1620-1624.
- [7] 彭文文, 宋卫武, 黄茂波, 等. 小叶臭黄皮中12个苯环衍生物 [J]. 药学报, 2014, 49(12): 1689-1693.
- [8] Songsiang U, Thongthoom T, Boonyarat C, *et al.* Claurailas A-D, cytotoxic carbazole alkaloids from the roots of *Clausena harmandiana* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(2): 208-212.
- [9] Wu T S, Huang S C, Wu P L, *et al.* Carbazole alkaloids from *Clausena excavata* and their biological activity [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(1): 133-140.
- [10] Kong W, Fu C, Ma S. General Au-Catalyzed benzannulation towards naturally occurring carbazole alkaloids from Methoxypropadiene [J]. *Chem Eur J*, 2011, 17(47): 13134-13137.
- [11] Wu T S, Huang S C, Wu P L, *et al.* Alkaloidal and other constituents from the root bark of *Clausena excavata* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(3): 523-527.
- [12] Liu H, Li C J, Yang J Z, *et al.* Carbazole alkaloids from the stems of *Clausena lansium* [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(4): 677-682.
- [13] Wu T S, Huang S C, Wu P L. Carbazole alkaloids from stem bark of *Clausena excavata* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(6): 1427-1429.
- [14] Thongthoom T, Songsiang U, Phaosiri C, *et al.* Biological activity of chemical constituents from *Clausena harmandiana* [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(5): 675-680.
- [15] Forke R, Krah M P, Daebritz F, *et al.* Transition metals in organic synthesis. Part 87. An efficient palladium-catalyzed route to 2-oxygenated and 2,7-dioxygenated carbazole alkaloids-total synthesis of 2-methoxy-3-methylcarbazole, glycosinine, clausine L, mukonidine, and clausine V [J]. *Syn Lett*, 2008, 8(12): 1870-1876.
- [16] Sripisut T, Laphookhieo S. Carbazole alkaloids from the stems of *Clausena excavata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(7): 614-617.
- [17] He W J, Chu H B, Zhang Y M, *et al.* Antimicrobial, cytotoxic lignans and terpenoids from the twigs of *Pseudolarix kaempferi* [J]. *Planta Med*, 2011, 77(17): 1924-1931.