

## 海南哥纳香抗癌有效成分研究

陈若芸 于德泉 马林 吴丰 宋万志

(中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

摘要 从番荔枝科(*Annonaceae*)哥纳香属植物海南哥纳香(*Goniothalamus howii* Merr)树皮中分离出2种苯乙烯吡喃酮类新化合物, 分别命名为海南哥纳香醇甲(Howiinol A, I)和海南哥纳香酯甲(Howiinin A, II)。药理实验表明海南哥纳香醇甲对多种瘤株体内体外实验均显示较明显的抗肿瘤活性。

关键词 番荔枝科; 海南哥纳香; 海南哥纳香醇甲; 海南哥纳香酯甲

海南哥纳香(*Goniothalamus howii* Merr)为番荔枝科(*Annonaceae*)哥纳香属植物, 主要产于海南省。近10年来从番荔枝科植物中分离出很多有抗肿瘤活性的化合物<sup>[1]</sup>, 我们在对其树皮的EtOH提取物初筛抗肿瘤有效的基础上, 对其进行化学分离, 从中获得2个新化合物, 分别命名为海南哥纳香醇甲(howiinol A, I)和海南哥纳香酯甲(howiinin A, II)。

化合物 I 白色针状结晶( $\text{CHCl}_3$ -MeOH), mp 176~178°C,  $[\alpha]_D^{25} + 97.6$  (c 0.087,  $\text{CHCl}_3$ ), EI-MS 给出分子离子峰为  $M^+$  380, 结合元素分析确定分子式为  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_6$ 。IR 3349  $\text{cm}^{-1}$  显示分子中存在羟基, 1680  $\text{cm}^{-1}$  为肉桂酰基及  $\alpha\beta$  不饱和酯基, 1620  $\text{cm}^{-1}$  为芳香基的吸收。UV  $\lambda_{\text{max}}$  nm: 280 (4.38), 推断为分子中肉桂酰基的吸收。<sup>1</sup>H NMR 谱中  $\delta$  7.7 (d,  $J = 15.9$  Hz) 和  $\delta$  6.45 (d,  $J = 15.9$  Hz) 是一个明显的由四重峰组成的 AB 系统, 归属为肉桂酰基双键的2个氢。 $\delta$  7.2~7.6 有3组多重峰, 积分为10个

氢, 表明分子中存在2个单取代苯环结构。 $\delta$  6.98 (dd,  $J = 9.7$  Hz) 和  $\delta$  6.12 (d,  $J = 9.7$  Hz) 为  $\alpha\beta$  不饱和羰基体系双键氢的信号, 归属为吡喃酮环上的双键质子。另外4组信号为含氧碳上的氢信号, 根据<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 对其进行归属, 分别为  $\delta$ : 6.13 (1H, d, 8-H), 4.55 (1H, dd, 7-H), 4.45 (1H, dd, 6-H), 4.38 (1H, dd, 5-H)。由<sup>13</sup>C NMR 可以看出分子中存在22个碳信号, 其中2个酯羰基, 分别为  $\delta$  165.7 和 163.1, 4个连氧碳分别为  $\delta$ : 62.7, 73.5, 74.6, 77.7。在  $\delta$  127.8~130.5 有10个碳的信号, 证明分子中存在2个单取代的苯环结构。 $\delta$  134.2 和 136.6 为连有取代基的2个苯环季碳信号。另外, 分子中还存在2个双键, 化学位移分别在  $\delta$ : 117.3, 143.8, 122.6 和 146.2。

由以上数据推导化合物 I 的结构为 I 式, MS 裂解碎片峰的数据也证明 I 式结构。MS 主要碎片峰图示如下:  $m/z$  131 (基峰), 147, 148, 233, 232 等。

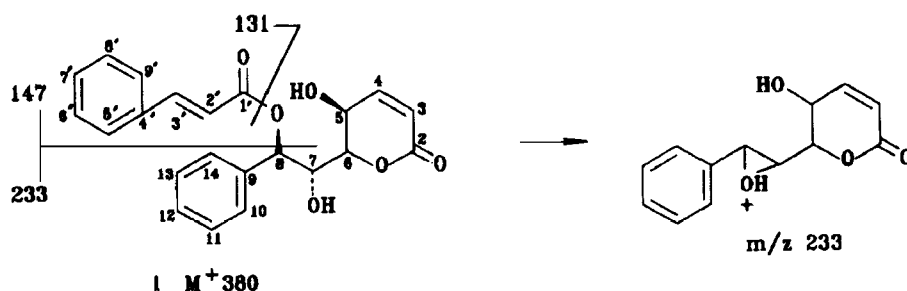


Fig 1 MS fragments of howiinol A (I).

化合物 I 分子中存在4个手性碳, 其相对构型系根据与已知物 goniotriol (其立体化学由

X-ray 分析确定<sup>[2]</sup>的<sup>1</sup>HNMR 和<sup>13</sup>CNMR 数据比较而推导出来, Goniotriol(III)的立体结构如图 2:

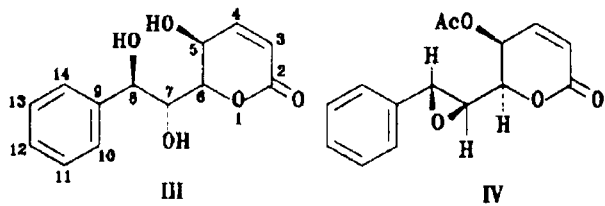


Fig 2 The structures of Goniotriol (III) and 5-acetoxyisogoniothalamin oxide (IV).

海南哥纳香醇甲的绝对构型已由该化合物的不对称合成证明<sup>[3]</sup>。

综上所述, 化合物 I 为 6S-(1R-羟基-2-R-肉桂酰氧基苯乙基)5,6-二氢-5S-羟基吡喃酮-2, [6S-(1R-hydroxy-2R-cinnamyloxyphenethyl)5,6-dihydro-5S-hydroxy-2-pyrone] 命名为海南哥纳香醇甲(Howiinol A, I)。

化合物 II 白色针状结晶(石油醚—EtOAc),

mp 193~195°C,  $[\alpha]_D + 247$ (c 0.078, CHCl<sub>3</sub>), EI-MS 给出分子离子峰为 M<sup>+</sup> 362, 结合元素分析确定分子式为 C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>。IR 1700 cm<sup>-1</sup>显示分子中存在肉桂酰基及 αβ 不饱和酯基, 1640 cm<sup>-1</sup>芳香基。UVλ<sub>max</sub> nm: 282(4.39), 可推断为肉桂酰基的吸收。在<sup>1</sup>HNMR 谱中同样存在一个由四重峰组成的 AB 系统, 可以推论化合物 II 与化合物 I 有一个相同的肉桂酰基部分, 在 δ 7.2~7.6 有 3 组多重峰, 由 10 个 H 组成, 也表明化合物 II 与化合物 I 一样, 在分子中存在 2 个单取代苯结构。根据<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HMQC 和 HMBC 谱确定肉桂酰基连接在 C-5 上。<sup>1</sup>HNMR δ 3.39(dd, J = 4.1, 2.1 Hz)和 δ 3.95(d, J = 2.1 Hz)各有一个 H 的信号, 与这 2 个 H 相关的 C 信号分别在 δ 54.2 和 δ 59.4, DEPT 谱表明这 2 个碳为叔碳。由此推测分子中 C-7 和 C-8 是一个三元环氧结构, MS 谱的裂解碎片峰也支持这一推论。MS 谱的主要碎片峰图示如下:

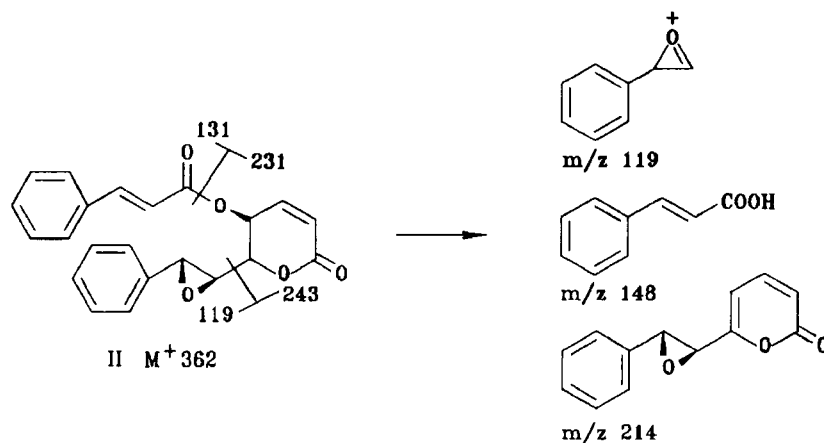


Fig 3 MS fragments of howiinin A (II).

化合物 II 中三元环氧的构型系由<sup>1</sup>HNMR 谱中环氧质子 7-H 和 8-H 的偶合常数推测, 文献报道<sup>[4]</sup>反式环氧的偶合常数为 1.8~2.0 Hz, 顺式为 4.2~4.5 Hz, 而化合物 II 的偶合常数 J<sub>7,8</sub> = 2.1 Hz, 因此可以推测化合物中 7,8 环氧的 2 个氢为反式, 7,8 环氧与已知化合物 5-acetoxyisogoniothalamin oxide(IV, 立体结构见

图 2)<sup>[5]</sup>核磁数据一致。C-5, C-6, C-7, C-8 的立体构型系根据与已知化合物(IV)的<sup>1</sup>HNMR 偶合常数比较而推定<sup>[5]</sup>。

综上所述, 化合物 II 为 6S(1,2 环氧苯乙基-5S-肉桂酰氧基)5,6-二氢吡喃酮-2, [6S-(1S, 2R-epoxyphenethyl-5S-cinnamyloxy)5,6-dihydro-2-pyrone, II], 命名为海南哥纳香酯甲

(Howiinin A, II)。

Tab 1  $^1\text{H}$ NMR data of I and II (in  $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz, TMS)

H	I	II	H	I	II
3	6.11(1H, d, 9.7)	6.26(1H, d, 9.9)	8	6.13(1H, d, 6.7)	3.95(1H, d, 2.1)
4	6.98(1H, dd, 9.7, 6.0)	6.95(1H, 9.9, 4.6)	10~14	7.33~7.57(m)	7.25~7.49(m)
5	4.38(1H, dd, 6.0, 2.6)	5.78(1H, dd, 4.6, 4.1)	2'	6.45(1H, d, 15.9)	6.38(1H, d, 16.0)
6	4.45(1H, dd, 3.7, 2.6)	4.68(1H, t, 4.1)	3'	7.73(1H, d, 15.9)	7.66(1H, d, 16.0)
7	4.55(1H, dd, 6.7, 3.7)	3.39(1H, dd, 4.1, 2.1)	5'~9'	7.3~7.5(m)	7.25~7.49(m)

Tab 2  $^{13}\text{C}$ NMR data of I and II (in  $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz, TMS)

C	I	II	C	I	II
2	163.1	161.2	9	136.6	135.5
3	122.8	124.8	10~14	127.6~130.5	127.0~130.8
4	143.8	140.1	1'	165.7	165.6
5	62.7	63.1	2'	117.3	115.9
6	77.3	77.7	3'	146.2	147.2
7	73.5	54.2	4'	134.2	133.8
8	74.6	59.4	5'~9'	127.5~130.5	127.0~130.8

抗癌活性 药理实验表明海南哥纳香醇甲和海南哥纳香酯甲均有一定的抗癌活性<sup>[6]</sup>。

## 1 体外抗肿瘤作用

1.1 海南哥纳香醇甲和海南哥纳香酯甲对 KB 和 LI210 细胞的生长有抑制作用,且呈浓度和时间依赖性。2  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  的海南哥纳香醇甲和 5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  海南哥纳香酯甲可抑制 KB 和 LI210 细胞的生长,抑制率为 92% 以上。

1.2 用 MTT 法观察了海南哥纳香醇甲对体外培养的人卵巢癌 A2780, 人肝癌 Bel-7402, 人口腔癌 KB 和人结肠癌 HCT-8 等肿瘤细胞株以及体外培养的正常细胞株中国仓鼠肺细胞 CHL 的影响,实验结果表明海南哥纳香醇甲对肿瘤细胞有较强的杀伤作用而对正常 CHL 的细胞毒作用较弱,说明海南哥纳香醇甲对肿瘤细胞和正常细胞有一定的选择性。

## 2 体内抗肿瘤作用

2.1 海南哥纳香醇甲对肝癌 H22 的治疗作用:给昆明种小鼠腋下接种 H22 后,次日给药,每日 1 次,共 10 次,11 天后处死动物,结果表明,无论是口服还是皮下注射均可明显抑制 H22 生长,口服 20  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,抑制率为 41.6%,

皮下注射 10  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  抑制率为 59.7%。

2.2 海南哥纳香醇甲对小鼠 Lewis 肺癌的治疗作用:给 C57/6 小鼠腋下接种 Lewis 肺癌,次日给药,60  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,共 10 次,11 天后处死动物,结果表明海南哥纳香醇甲可明显抑制 Lewis 肺癌的生长,抑制率为 79.2%。

2.3 海南哥纳香醇甲对腹水型肉瘤 S180 小鼠的治疗作用:给昆明种小鼠腹腔接种 S180 后,次日给药 40  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,共 30 次,对照组小鼠全部死亡,给药组小鼠全部存活,表明腹腔注射海南哥纳香醇甲可使荷瘤小鼠的生命延长。

## 实 验 部 分

熔点用 Boetius 熔点仪测定,温度未校正。红外光谱用 Perkin-Elmer 683 型仪测定, KBr 压片;质谱用 VGZAB-2F 型仪测定;核磁共振谱用 Bruker AM-500 型仪测定, TMS 为内标,  $\text{CDCl}_3$  为溶剂,紫外光谱用岛津 UV 240 型仪测定;比旋度用 Perkin-Elmer 241 型仪测定;柱色谱用硅胶(10~40  $\mu$ )为青岛海洋化工厂产品。药材于 1992 年 10 月采自海南省三亚市,由本文作者之一宋万志教授鉴定。

### 1 提取分离

海南哥纳香树皮 10 kg,用 95% EtOH 回流提取 3 次,每次 1 h,提取液浓缩得浸膏 563 g,醇浸膏用  $\text{CHCl}_3$ - $\text{H}_2\text{O}$  振摇分配,取  $\text{CHCl}_3$  层,减压浓缩得  $\text{CHCl}_3$  部分 205 g,再用石油醚—90% MeOH(1:1)分配,得到 90% MeOH 部分 160 g,该部分继续以  $\text{CHCl}_3$ -MeOH(97:3;95:5),石油醚—EtOAc(9:1;8:2)等混合溶剂作为

流动相,经反复硅胶柱色谱得到化合物 I 1120 mg, II 60 mg。

## 2 结构鉴定

化合物 I 白色针晶, mp 176 ~ 178°C,  $[\alpha]_D + 97.6$  (c 0.0865, CHCl<sub>3</sub>); 元素分析 C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> · 1/4H<sub>2</sub>O, 实验值(%): C 68.59, H 5.13; 计算值(%): C 68.66, H 5.33。IR(KBr) cm<sup>-1</sup>: 3528, 3425, 3349, 1707, 1680, 1627, 1278, 1122, 1008, 698。UVλ<sub>max</sub> nm(log ε): 278 (4.38)。EI-MS m/z(%): 380(M<sup>+</sup>, 2), 362(M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O, 10), 344(5), 237(45), 233(2), 232(10), 148(98), 147(12), 131(100), 105(10)。<sup>1</sup>HNMR 和 <sup>13</sup>CNMR 数据见表 1 和表 2。

化合物 II 白色针晶, mp 193 ~ 195°C,  $[\alpha]_D + 247$  (c 0.078, CHCl<sub>3</sub>); 元素分析 C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> · 1/3H<sub>2</sub>O, 实验值(%): C 71.71, H 4.93, 计算值(%): C 71.93, H 5.08。EI-MS m/z(%): 362(M<sup>+</sup>, 2), 256(30), 214(20), 183(25), 148(24), 131(100), 119(5), 105(5)。IR(KBr) cm<sup>-1</sup>: 1740, 1700, 1640, 1450, 1380, 1340, 1245, 1200, 1160, 1090, 1025, 990, 900。

UVλ<sub>max</sub> nm(log ε): 205(4.57), 215(肩 4.51), 282(4.39)。<sup>1</sup>HNMR 和 <sup>13</sup>CNMR 数据见表 1, 2。

致谢 光谱由本所仪分室测定,旋光由本室杨敬芝同志测定。

## 参 考 文 献

- 1 Fang XP, Rieser MJ, Gu ZM, *et al.* Annonaceous acetogenins: an updated review. *Phytochem Anal*, 1993, **4**:27
- 2 Alkofahi A, Ma WW, Mckenzie AT, *et al.* Goniotriol from *Goniiothalamus giganteus*. *J Nat Prod*, 1989, **52**:1371
- 3 孙绍毅,于德泉.抗肿瘤化合物哥纳香醇甲的合成研究.药理学报(待发表)
- 4 Sam TW, Yeu CS, Sabirin M, *et al.* Goniiothalamine oxide: an embryotoxic compound from *Goniiothalamus macropyllus*. *Tetrahedron Lett*, 1987, **28**:254
- 5 Hasan CM, Mia MY, Rashid MA, *et al.* 5-Acetoxyisogoniiothalamine oxide, An epoxytyrly lactone from *Goniiothalamus sesquipetalis*. *Phytochemistry*, 1994, **37**:1763
- 6 于德泉,陈若芸,谢凤指,等.中国医学科学院、中国协和医科大学科学年会学术论文集. 1996:260

# THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF *GONIOTHALAMUS HOWII* MERR

Chen Ruoyun(Chen RY), Yu Dequan(Yu DQ), Ma Lin(Ma L),  
Wu Feng(Wu F) and Song Wanzhi(Song WZ)

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences  
and Peking Union Medical College, Beijing 100050*)

**ABSTRACT** Two new compounds were isolated from the chloroform soluble fraction of ethanolic extract of bark of *Goniiothalamus howii* Merr. On the basis of their chemical properties and spectral data (MS, UV, IR, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>CNMR) they were identified as 6S-(1R-hydroxy-2R-cinnamyloxyphenethyl) 5, 6-dihydro-5S-hydroxy-2-pyrone named Howiinol A and 6S-(1S, 2R-epoxyphenethyl-5S-cinnamyloxy) 5, 6-dihydro-2-pyrone named Howiinin A. Howiinol A showed significant antitumor activities toward human tumor cell *in vitro* and *in vivo* and less toxic.

**KEY WORDS** *Annonaceae*; *Goniiothalamus howii* Merr; Howiinol A; Howiinin A