

香 茶 菜 抗 癌 成 分 的 研 究

程培元 许美娟 林永乐 石金城

(南京药物研究所)

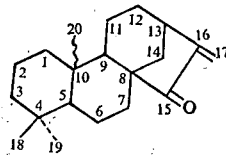
提要. 从香茶菜属植物香茶菜 *Rabdosia amethystoides* (Benth) Hara 中分得七种成分, 其中之一香茶菜甲素为一新的四环二萜, 有抗实验肿瘤及抑制金黄色葡萄球菌作用。用光谱法配合衍生物制备, 确定甲素为 7 α , 14 β -羟基-20 α 羟甲基-16-贝壳杉烯-11,15=酮乙素为乌苏酸, 丙素为 β -谷甾醇, 己素为硬脂酸, 其余成分尚在研究中。

关键词 香茶菜; 香茶菜甲素; 7 α , 14 β -羟基-20 α 羟甲基-16-贝壳杉烯-11,15=酮乌苏酸

香茶菜 *Rabdosia amethystoides* (Benth) Hara 为唇形科香茶菜属植物, 民间用以治疗肿瘤, 化学成分尚未见报道。我们在体外肝癌细胞培养及动物瘤谱筛选配合下, 从中分得一种新的四环二萜香茶菜甲素及乌苏酸, β -谷甾醇, 硬脂酸等七种成分。

香茶菜甲素 (简称甲素 I) 长方形板状结晶, 得率 0.25%, 熔点 260~262.5°C, 质谱测定分子量 348, 结合元素分析, 分子式为 C₂₀H₂₈O₆, [α]_D²⁰+28.6° (吡啶 C=5)。紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm 229 (ϵ =8450), 红外光谱 ν_{\max}^{KBr} cm⁻¹ 1725 (共轭五元环酮), 1700 (羰基), 1645 (环外亚甲基 >C=CH_2), 核磁共振谱 (C₅D₅N) δ 5.43 (2 H, s, >C=CH_2), 碳谱 (C₅H₅N) δ 204.2, 为 α 、 β 不饱和酮, 147.9、119.5 为两个烯碳 (>C=CH_2)。据此, 甲素具有与环外亚甲基共轭的环戊酮的部分结构。

从下列数据表明甲素属 ent-kaurene 类型: I 的核磁共振谱 δ 0.81, 1.16 (各 3 H, s, 2 \times CH₃) 示有偕二甲基。甲素经酰化接上三个乙酰基, 该酰化物 (II) 质谱 474 M⁺, 分子式 C₂₆H₃₄O₈ II 的核磁共振谱 (CDCl₃) δ 1.93, 2.08, 2.13 (各 3 H, s, 3 \times OAc) 图 1, 示 I 存在三个羟基, 无内酯环, 结合生源关系考虑 I 属 ent-kaurene 二萜⁽¹⁾, 骨架为



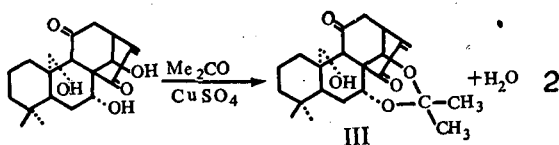
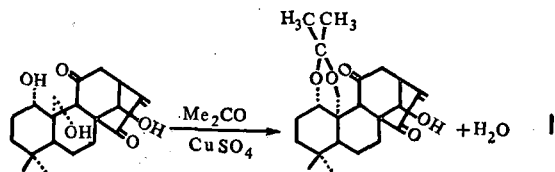
香茶菜甲素的功能基 20 位羟甲基 δ 3.16 及 3.50 (各 1 H, AB 系统, J=10 Hz) 与同属植物分得的二萜类比, 化学位移偏于高场⁽²⁻³⁾ 1 碳谱中缺乏如 Oridonin 7 位氧桥四取代碳的信号*, 而有另一羰基 (δ 206.3, s) 信号。质谱 m/e 299 (M⁺-H₂O-CH₂OH), 提示存在 CH₂OH。此外, δ 4.64 (1 H, q, J=5 及 10 Hz), 6.19 (1 H, s) 为两个仲醇质子, 示 2 \times -OH。综上数据 I 具有一 CH₂OH, 两个仲羟基, >C=O 诸功能基。

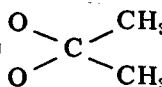
双共振奥氏效应试验分别照射 II AB 系统的两个 H (δ 3.60 及 03.90) 观察 δ 1.34 (C19-CH₃)

本文于 1980 年 6 月 30 日收到。

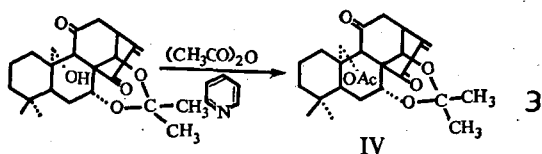
* 我们所作 Oridonin 的碳谱 7 位碳 δ 97.8

及 6.49(C14- α H), 其积分分别增益约 40% 及 12%, 表明此两组质子存在奥氏效应 (NOE), 提示 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 在 20 位, 且为 α 构型, A/B 环为反式, B/C、C/D 环为顺式连接⁽⁴⁻⁵⁾。II 的奥氏效应试验 (CDCl_3) δ 6.49 分别与 C13- α H (δ 3.26) 及 C20-H β (δ 3.90) 存在奥氏效应。C14- α H 与 C13- α H 双面夹角 $\leq 90^\circ$, 呈单峰, 故 14 位有 β OH。I 核磁共振谱 δ 4.64 (1 H, q, $J=5$ 及 10 Hz) 为竖键质子, 其同碳羟基为 α -OH, 分子模型提示 1、7 位均可能, 并均能与丙酮缩合, 反应式如下 (1), (2)。

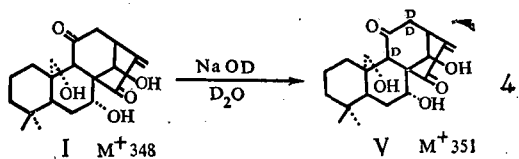


香甲素丙酮缩合物 III 中  两甲基的化学位移分别为 δ 1.28 及 1.66, 与文献类

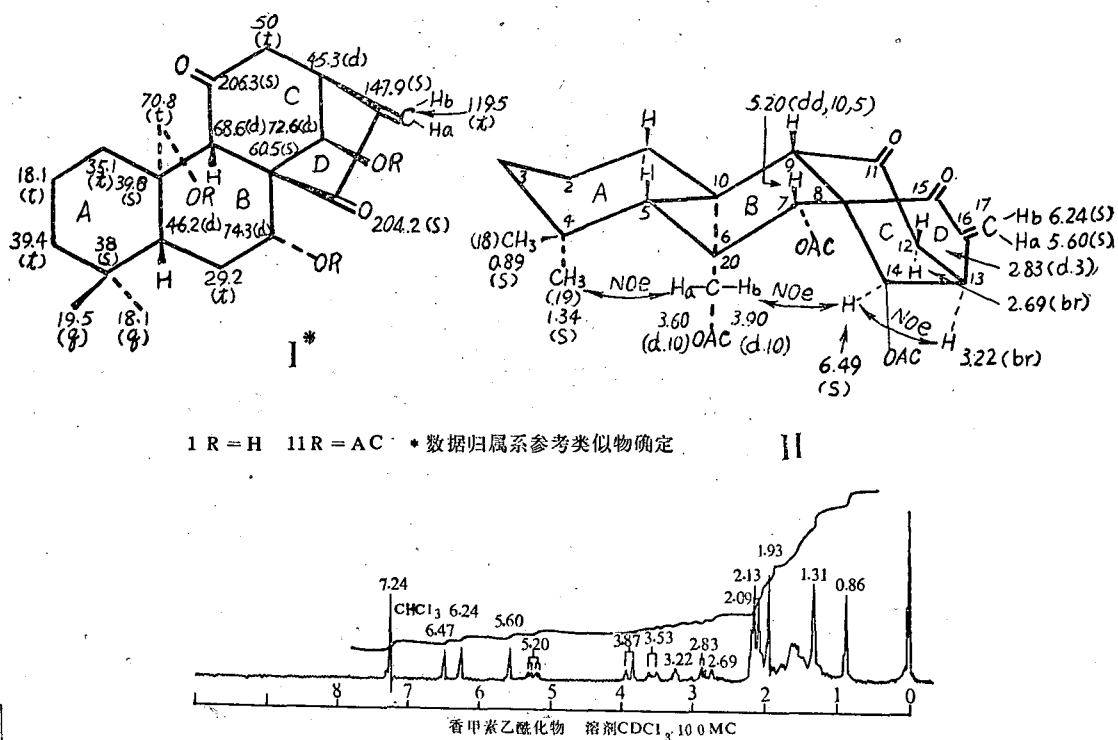
似物比较, 与 III 较一致⁽⁶⁾, C7- β H 的化学位移亦与相似物较一致⁽⁴⁻⁶⁾。奥氏效应不支持 (1), III 的酰化物 (IV) 核磁共振谱 (CDCl_3) 表明 20 位 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 酰化成 $-\text{CH}_2\text{OAc}$ [反应式 (3)], δ 3.76, 3.92 (各 1 H, dd, AB 系统, $J=10$ Hz, C20-2 H) 较 III 向低场位移约 0.5 ppm, 证实 7 位有一个 α -OH。



另一羰基在 1、2、3、6、11、12 位均可能, 氘代香甲素 (V) 质谱 M^+ 351, 1、2、3 位可排除。V 核磁共振谱 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) C7-H 及 C13-H 峰仍存在, 6、12 位可排除。I 核磁共振谱 δ 2.75 及 2.60 两峰信号在 V 的核磁共振谱中消失, V 的核磁共振谱 C13-H (δ 3.30) 从宽峰变为尖峰, 此系 12 位两质子邻近羰基被氘代后信号消失, 与 C13-H 减少偶合所致, 故羰基在 11 位。双共振去偶试验照射 II 的 C13-H, 使 C12-2 H 的 α 、 β 两组峰均变简、变尖, C17-H α 亦变尖; 照射 C12- β H 时, C13-H, C12- α H 峰均变尖, 证实羰基在 11 位。氘代反应式如 (4)



综上所述各种实验数据香甲素的结构式如 I



I R = H II R = AC * 数据归属系参考类似物确定

图 1 香甲素乙酰化物核磁氢谱(CDCl₃)

实 验 部 分

层析硅胶为浙江黄岩硅胶厂产，柱层析 160 目，薄层 250 目。熔点由微量熔点测定仪 (Yanaco) 测定。紫外光谱 uv-200 型。红外光谱日立 285 型。核磁共振光谱 XL-100, WH 90, JNM-PS-100 型。双共振奥氏效应、自旋去偶、碳谱为 FX-60 Q, 质谱为 JEOL D-300。

(一) 香茶菜的提取 叶干粉用乙醇第一次 4 倍，第二次 3 倍量回流提取二次，醇提液加 5% 活性炭 (生药量) 回流脱色、离心、滤液浓缩至浸膏，用醋酸乙酯溶解，加 5% Na₂CO₃ 液振提，醋酸乙酯液浓缩至干，研细，用干法装好的硅胶柱层析，用氯仿、氯仿-丙酮递增洗脱。从氯仿洗脱液中依次得丁素 (白色结晶，熔点 58~61°C)，丙素 (白色结晶，熔点 139~141°C，为 β-谷甾醇)，乙素 (白色结晶，熔点 289~291°C，为乌苏酸)。从氯仿-丙酮 (9:1) 洗脱液中得戊素 (白色结晶，熔点 247~250°C)；氯仿-丙酮 (8:2) 得甲素 (白色结晶，熔点 260~262.5°C)。另酸性部分用干法装好的硅胶柱层析，氯仿洗脱得己素 (白色结晶，熔点 69~70°C，为硬脂酸)。

香茶菜甲素 (I) 分子式 C₂₀H₂₈O₅。计算值 % C 68.73, H 8.04; 实测值 % C 68.55, 68.53, H 8.21, 8.07。紫外光谱 λ_{max}^{EtOH} 229 nm (ε=8450)。红外光谱 ν_{max}^{KBr} cm⁻¹ 3360, 3200, 2900, 1725, 1700, 1645, 1440, 1380, 1130, 1090, 1030, 940。质谱 M⁺ 348, 主要裂片离子 330 (M⁺-H₂O), 312 (M⁺-2 H₂O), 299 (M⁺-H₂O-CH₂OH), 196, 194, 148, 137, 123, 109, 91, 81, 67, 55。核磁共振谱 (C₅D₅N) δ 0.81, 1.16 (各 3 H, s, C18-Me 和 C19-Me), δ 3.16, 3.50 (各 1 H, dd, AB 系统, J=10 Hz, 为 C20-Ha 及 Hb), δ 4.64 (1 H, q, J=5 及 10 Hz, C7-βH), δ 5.43 (2 H, C17-2 H), δ 6.19 (1 H, s, C14-αH)。

(二) 香甲素乙酰化物 (II) 香甲素 105 mg 加吡啶 1.5 ml 及醋酐 1.5 ml 溶解, 放置过夜, 翌日, 加乙醇 2 ml, 在水浴 40~43°C 通氮减压抽去溶媒, 得白色粘稠状物, 蒸馏水搅拌洗涤, 抽滤得白色沉淀物, 稀酸水洗, 继蒸馏水洗至中性, 干燥, 得白色结晶 100 mg, 熔点 185~187°C。元素分析 $C_{26}H_{34}O_8$ 。实测值 %C65.95, 66.01, H7.12, 7.14。计算值 %C65.73, H7.17。表明为香甲素的三乙酸酯。紫外光谱 λ_{max}^{EtOH} 233 nm。红外光谱 ν_{max}^{KBr} cm^{-1} 1725 (酯), 1700 (羰基), 1640 ($\text{>C}=\text{CH}_2$), 1380, 1360 ($-\text{CH}_3$), 1235 (乙酰基), 1140, 1075, 1040, 960, 940。质谱 m/e 474 (M^+), 414 ($M^+ - \text{HOAc}$), 374, 354 ($M^+ - 2 \text{HOAc}$), 314 ($374 - \text{HOAc}$), 294 ($M^+ - 3 \text{HOAc}$)。碳谱 (CDCl_3) δ 36.5 (C4, s), δ 40.3 (C10, s), δ 60.0 (C8, s), δ 143.9 (C16, s), δ 200 (C15, s), δ 204 (C11, s), δ 73.2 (C1, d), δ 72.4 (C14, d), δ 68.7 (C9, d), δ 46.8 (C5, d), δ 42.6 (C13, d), δ 24.0 (C2, t), δ 38.4 (C3, t), δ 17.5 (C6, t), δ 35.2 (C7, t), δ 121.2 (C17, t), δ 71.4 (C20, t), δ 50.5 (C12, t), δ 19.5 (C18, $-\text{CH}_3$, q),

δ 17.8 (C19, $-\text{CH}_3$, q), δ 21.2, 20.8, 20.8 ($3 \times -\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$, q), δ 170.7, 170, 168.5 ($3 \times -\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}$, s)。

(三) 香甲素丙酮缩合物 (III) 香甲素 100 mg 溶于 50 ml 丙酮中加无水硫酸铜粉 1~2 g, 在水浴上回流 16 小时, 不断振摇, 快速滤出, 反应液在通氮下抽除溶媒, 干燥, 得无定形淡黄色粉末, 熔点 105°C。红外光谱 ν_{max}^{KBr} cm^{-1} 3450, 3070, 2970, 2920, 1730, 1695, 1640, 1460, 1370, 1240, 1140, 1110, 1020, 940。质谱 m/e M^+ 388, 373 ($M^+ - \text{CH}_3$), 370 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 358 ($M^+ - 2 \times \text{CH}_3$), 354, 343, 330, 313, 301。核磁共振谱 (CDCl_3) δ 0.80, 1.13 (各 3 H, s, C18- CH_3 及 C19- CH_3), δ 1.28, 1.66 (各 3 H, s, $\begin{matrix} -\text{O} & & \text{CH}_3 \\ & \diagdown & / \\ & \text{C} & \\ & / & \diagdown \\ -\text{O} & & \text{CH}_3 \end{matrix}$), δ 3.13, 3.50 (各 1 H, AB 系统, $J=10$ Hz, C20-2 H), δ 3.28 (1 H, br, C13-H), δ 4.40 (1 H, q, C7- β H), δ 5.03, 5.61 (各 1 H, s, C17-2 H), δ 6.32 (1 H, s, C14- α H)。

(四) 香甲素丙酮缩合物 (III) 的酰化 香甲素丙酮缩合物 (III) 50 mg 加吡啶 0.3 ml, 醋酐 0.3 ml, 放置过夜, 在 63°C 水浴上旋转薄膜蒸发, 抽去溶媒, 按常法处理至干, 硅胶柱层析, 氯仿洗脱, 得无色粘稠状的香甲素丙酮缩合物酰化物 (IV) 约 20 mg, 熔点 65~67°C。(IV)核磁共振谱 (CDCl_3) δ 0.89 (3 H, s, C18- CH_3), δ 1.13 (3 H, s, C19- CH_3), δ 1.29,

δ 1.66 (各 3 H, s, $\begin{matrix} -\text{O} & & \text{CH}_3 \\ & \diagdown & / \\ & \text{C} & \\ & / & \diagdown \\ -\text{O} & & \text{CH}_3 \end{matrix}$), δ 2.10 (3 H, s, C20-OAc), δ 3.30 (1 H, br, C13-H), δ 3.76, 3.92 (各 1 H, dd, AB 系统, $J=10$ Hz, C20-2 H), δ 4.30 (1 H, q, $J=5$ 及 10 Hz, C7- β H), δ 5.01, 5.58 (各 1 H, s, C17-2 H), δ 6.31 (1 H, s, C14- α H)。

(五) 氘代香甲素 (V) 香甲素 34.5 mg 溶于 0.8 ml 无水二氧六环中, 另加入 2 ml 稀 NaOD 的 D_2O 液, 在室温搅拌 1.5 小时, 然后倒入稀酸水中, 有白色沉淀析出, 立即抽滤, 以酸水、蒸馏水洗至中性, 干燥, 熔点 260~264°C。质谱 (m/e) 351 (M^+), 333 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 315 ($M^+ - 2 \text{H}_2\text{O}$), 302 ($M^+ - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_2\text{OH}$), 284 ($M^+ - 2 \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_2\text{OH}$)。核磁共振谱 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ 0.76, 1.10 (各 3 H, s, C4-2 \times CH_3), δ 3.16 及 3.50 (各 1 H, dd, AB 系统, $J=12$ Hz, C20-2 H), δ 3.30 (1 H, s, C13-H), δ 4.90 (4 H, br, 3 \times OH, 另为 C7-H), δ 5.38 及 5.56 (各 1 H, s, 为 C17-Ha 及 C17-Hb), δ 6.18 (1 H, s, 为 C14- α H)。

香甲素乙酰化物的奥氏效应试验

编 号	照 射 质 子 (δ)	观 察 质 子 (δ)	NOE
1	C13—H(3.26)	C14—H (6.49)	27%
2	C20—H _a (3.90)	C14—H (6.49)	12%
3	C14—H(6.49)	C13—H (3.26)	12%
4	C18—CH ₃ (0.89)	C14—H (5.49) C7—H (5.20)	无 无
5	C7—H (5.20)	C18—CH ₃ (0.89)	无
6	C20—H _a (3.60)	C19—CH ₃ (1.34)	约40%

致谢 植物品种由本所胡俊铤同志鉴定, 元素分析、紫外、红外由我所分析室测, 核磁由中科院感光所及江苏省化工所, 上海医工院、上海药物所测。质谱由江苏省林化所测。本文承梁晓天、谢晶曦两教授审阅并提供宝贵的意见, 一并致谢。

参 考 文 献

1. Fujita E, et al: Terpenoids XXXI Biogenetic classification of Isodon diterpenoids 药学杂志(日) 94:788, 1974
2. Fujita E and Taoka M: Terpenoids XX The structure and absolute configuration of Lasiokaurin and Lasiodonin, new diterpenoids from Isodon Lasiocarpus (Hayata) Kudo *Chem Pharm Bull* 20 (8):1752, 1972
3. Fujita T, et al: Structures of effusanins diterpenoids from *Rabdosia effusa* *Chem Lett* 1635, 1980
4. Kubo I, et al: The structure of infrexin *Ibid* 99, 1977
5. Kubo I, et al: Structure of Isodomedin, a novel ent-Kaurenoid diterpene *JCS Chem Comm* 555, 1977
6. Nomoto K, et al: Rastronole A, B, C, D, E, F, G und H; eine Gruppe multioxygenierter Diterpenbit-terstoffe der ent-kauran-Reihe aus *Englerastrum scandens* Alston *Helv Chim Acta* 59 Fase 3, 772, 1976

THE ANTITUMOR CONSTITUENTS OF RABDOSIA AMETHYSTOIDES

CHENG Pei-yuan, XU Mei-juan, LIN Yong-le and SHI Jin-cheng

(Nanjing Institute of Materia Medica)

ABSTRACT

From the Chinese drug *Rabdosia amethystoides* seven components were isolated, one of them is a new four ring diterpenoid to which the name Amethystoidin A is suggested. Its formula was found to be C₂₀H₂₈O₅, m. p. 260~262.5°C. By means of spectral methods combined with chemical analysis the chemical structure of Amethystoidin A was determined to be ent-7 α , 14 β -dihydroxy-20 α -hydroxymethyl-kaur-16-en-11,15-dione. This compound was shown to have inhibitory action on experimental tumor in vivo and heptoma cells and staphylococcus aureus in vitro. The other components "B", "C" and "F" were identified to be ursolic acid, β -sitosterol and stearic acid respectively. The identification of other components is in progress.

Key words *Rabdosia amethystoides*; Amethystoidin A; ent-7 α , 14 β -dihydroxy-20 α -hydroxymethyl-kaur-16-en-11,15-dione; ursolic acid