

毛叶香茶菜抗癌成分的研究

I. 毛叶香茶菜素 A 和 B 的结构

李继成 刘晨江 安新宗 汪茂田* 赵天增* 余守志*
赵根锁* 陈荣峰*

(河南医学科学研究所, 郑州; *河南化学研究所, 郑州)

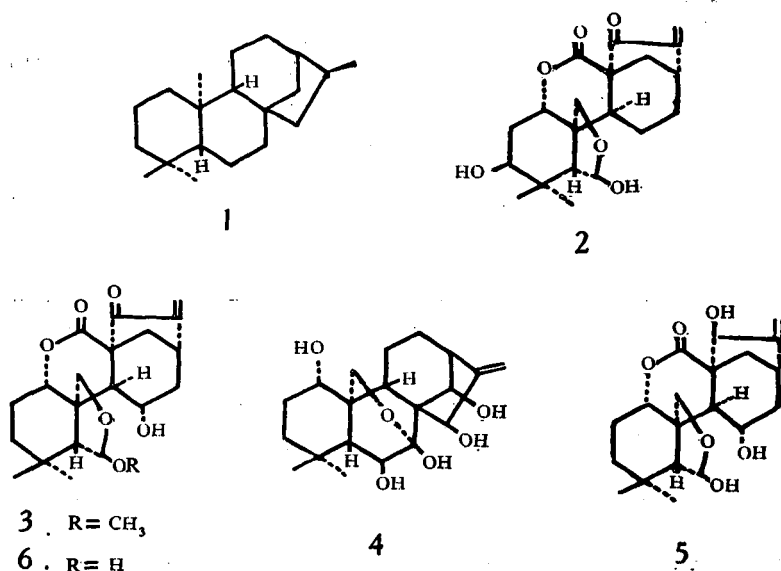
提要 自毛叶香茶菜 *Rabdosia japonica* (Burm. f) Hara 的干叶中分离出四个二萜化合物, 其中两个是新的二萜, 命名为毛叶香茶菜素 A 和 B。通过光谱分析和化学反应转变成已知化合物 epinodosin 6 和 isodonol 8 确定了毛叶香茶菜素 A 和 B 的结构分别为 3 和 7。初步的抗癌试验表明, 3 和 7 都具有明显细胞毒作用。其它两个二萜成分证明为 enmenol 4 和 epinodosinol 5。

关键词 毛叶香茶菜; 毛叶香茶菜素 A; 毛叶香茶菜素 B; enmenol; epinodosinol。

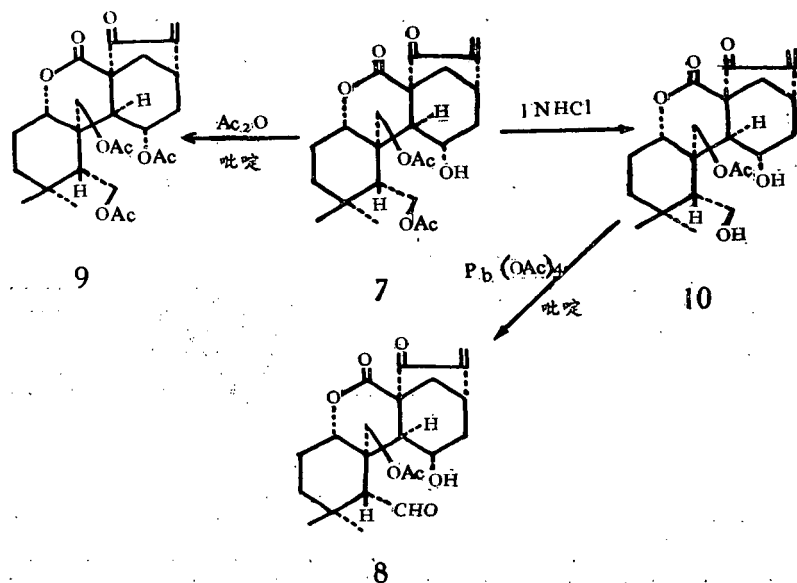
毛叶香茶菜 *Rabdosia japonica* (Burm. f) Hara 为唇形科香茶菜属植物, 是民间的一种草药, 有抗菌消炎作用。日本学者从同种植物中分离出多种具有生物活性的二萜类化合物, 都属于(-)Kaurane(1)型二萜, 其碳骨架与(-)Kaurane 相同, 或与 B-Seco-ent-kaurane 相同, 例如 enmein 2。而国内尚未见有关该种植物的化学成分研究的报道。

我们参考国外文献⁽¹⁾, 从毛叶香茶菜中分离出十余个二萜化合物, 其中四个成分的结构已经测定, 分别命名为毛叶香茶菜素 A、B、C 和 D。毛叶香茶菜素 A 和 B (rabdosin A 和 B) 系新化合物, 结构确定为 3 和 7。epinodosinol 曾有报道自该种植物中分离出来。初步的抗癌试验表明, 二者对体外培养的 EcA 癌细胞 10 μg/ml 浓度下其蓝染率 100%, 其中毛叶香茶菜素 B 7 对 L₁₂₁₀ 白血病小鼠生命延长率 122%。毛叶香茶菜素 C 和 D 与 enmenol 4 和 epinodosinol 5 相同, 无明显抗癌活性。

毛叶香茶菜素 A 3, 无色棱状结晶, 熔点 200~202°C, $[\alpha]_D^{25} - 40.1$ (C=1.07, 吡啶), C₂₁H₂₈O₆。3 含有一个带共轭环外亚甲基的环戊酮紫外光谱 λ_{max}^{MeOH} 235 nm (ε 7390), 红外光谱中的 1753 和 1640 cm⁻¹ 吸收带以及 ¹H 核磁共振谱中 δ 5.41, 6.00 (各 1 H, S) 信号。两个叔甲基 (δ 0.95, 1.00 各 3 H, S), 一个甲氧基 (δ 3.31, 3 H, S), 和一个处在叔碳原子与氧原子之间的亚甲基 [δ 3.82, 4.02 (各 1 H, d, J=10 Hz)]。3 还含有一个 δ-内酯 (1715 和 1265 cm⁻¹) 和一个仲羟基 [3445 cm⁻¹, δ 4.10 (1 H, m)]。高分辨质谱表明, 3 有一个五元环缩醛结构单元, 且羟基不在 A 环上⁽²⁾。¹H 核磁共振谱的研究支持了这个结论。基于以上数据, 3 可能是 epinodosin 的甲醇缩醛。3 在醋酸水溶液中进行水解反应生成相应的半缩醛 epinodosin 6⁽³⁾, 从而确定了毛叶香茶菜素 A 的结构为 3。



毛叶香茶菜素 **7**，无色棱晶，熔点 182~184°C， $[\alpha]_D^{25}$ 130.6 (C=2.24, 吡啶)， $C_{24}H_{32}O_8$ 。**7** 含有一个带共轭环外亚甲基的环戊酮紫外光谱 λ_{\max}^{MeOH} 230 nm (ϵ 7750)；红外光谱中的 1740 和 1640 cm^{-1} 吸收带； 1H 和 ^{13}C 核磁共振 δ 5.60, 6.10 (各 1 H, br·S), δ 119.66 (t), 149.13 (s) ($>C=CH_2$), 和 199.00 ($>C=O$)。7 有两个乙酰基 [δ 2.04 (6 H, S), 1740 和 1235 cm^{-1}]，偕二甲基 [1.02 (6 H, S)] 和一个仲羟基 [3450 cm^{-1} , δ 4.00 (1 H, m)]。 ^{13}C 核磁共振谱中有三个酯羰基信号 (δ 170.66, 169.70, 168.95)，除两个归属于乙酰基外，还应有一个其它类型的酯存在，由于红外光谱中的 1720 cm^{-1} 吸收带，推断有一个 δ -内酯系统。 δ 4.30, 4.88 的 AB 型信号可归属于三级碳原子和乙酰氧基之间的亚甲基 ($\rightarrow C-CH_2-OAc$)，因为该亚甲基上的两个质子是而非对映异位的 (diastereotopic)。 1H 和 ^{13}C 核磁共振表明分子中不含半缩醛或缩醛结构单元，但有两个连氧亚甲基 (δ 62.30, t, 66.50, t)。基于上



述数据, **7** 的骨架可能与 isodonol **8**⁽⁴⁾ 相同。

7 用醋酐—吡啶乙酰化得三醋酸酯 **9**, 红外光谱不再显示羟基吸收, ¹H 核磁共振谱中 >CHOH 信号移向低场(δ 4.60, m)。**7** 选择性水解生成单醋酸酯 **10**。比较这三个化合物的 ¹³C 和 ¹H 核磁共振数据使 **7** 的四个含氧碳(不包括羰基碳)得到归属。

7, 9 和 10 的部分 ¹³C 核磁共振数据 (δ ppm)

化 合 物	C ₁	C ₆	C ₁₁	C ₂₀
7	76.22d	62.30t	65.94d	66.50t
9	76.27d	61.28t	67.98d	66.56t
10	76.90d	58.61t	65.48d	67.92t

¹H 核磁共振谱研究说明 C₆ 是以乙酰氧亚甲基形式存在的, 除去 C₆ 上的乙酰基后, C₆-H₂ 移向高场(3.97, d), 外形为二重峰, 表现为假像的 ABX 系统, 自旋去偶证实了 C₆ 和 C₅-H 的关系。

仲羟基的位置和立体化学。根据 enmein 型骨架二萜的结构特征, 羟基可能在 A 环或 C 环上。自旋去偶找到了 C₁-H(δ 5.12, t, J=8 Hz) C₂-H₂ 和 C₃-H₂ 的关系, 排除了羟基在 A 环上的可能。

7 和 **3** 的 C₁₃-H 的化学位移, 裂分方式和偶合常数几乎完全相同 (δ 3.08—3.10, dd, J=10 和 4 Hz), 这说明两个化合物的 C₁₃-H 的立体化学环境是几乎相同的, 也就是说二者 C 环和 D 环的构型和构象应该是一致的, 即扭曲的船式构象。基于以上事实, 加上 >CHOH 的 $W_{1/2} \geq 28$ Hz, 羟基显然不可能在 C₁₂ 或 C₁₄ 位, 不管羟基是任何取向, 其同碳质子的 $W_{1/2}$ 都不会等于或大于 28 Hz⁽⁴⁾。自旋去偶找到了 C₉ 和 C₁₁-H 间的关系, 其间的偶合常数 (11—12 Hz) 说明二者之间双面夹角约 180°, 都是假-直立取向, 羟基在 C₁₁ 位, α -取向, C₁₁ 为 S 构型。**7** 用醋酐—吡啶乙酰化, 室温放置过夜反应即可接近完全, 当羟基为 β -取向时, 同样条件下反应 16 天仍不能完全⁽²⁾, 这一事实也支持羟基为假-平展取向。

7 和 **9** 在相同条件下水解, 主要产物都是 **10**, 这说明 C₁₀-CH₂OAc 处在比 C₁₁-OAc 和 C₅-CH₂OAc 空间阻碍更大的环境中⁽⁴⁾。

10 在吡啶中用 Pb(OAc)₄ 氧化得到的产物与 isodonol **8** 比较, R_f 值, 红外光谱, ¹H 核磁共振谱相同。基于上述事实, 毛叶香茶菜素 B 的结构确定为 **7**。

实 验 部 分

核磁共振谱用 JEOL FX 60 Q 和 PS-100 波谱仪测定, 除注明者外, 溶剂均为 CDCl₃, 四甲基硅烷作内标。质谱在 JMS-D 100 和 AEI-MS 50 仪器上测定, 70~75 电子伏特。红外光谱用 SP-100 型仪器测定, KBr 片法。紫外光谱用 SPECORD uv vis 仪器测定。熔点用显微熔点仪测定, 未校。

提取和分离

将毛叶香茶菜干叶粉碎, 用乙醚室温浸泡。浓缩浸泡液得棕褐色浸膏, 甲醇溶解, 活性炭脱色, 浓缩成棕黄色浸膏, 溶于乙酸乙酯, 用 10% Na₂CO₃ 硷化除去酸性成分, 蒸除溶剂得中性干浸膏粉。将干浸膏粉进行硅胶柱层析, 以二氯甲烷—丙酮(9:1, 8:2)洗脱, 分别得

棕色油状物, 依次用乙醚, 苯处理, 苯重结晶得毛叶香茶菜素 A 3(0.05%)。继续洗脱的流分用苯, 乙醚处理, 甲醇重结晶得毛叶香茶菜素 B 7(0.1%)。从其它流分中得到毛叶香茶菜素 C 4 和 D 5。

毛叶香茶菜素 A 3, 无色棱状结晶, 熔点 200~202°C, $[\alpha]_D^{13} - 40.1$ (C=1.07, 吡啶), 质谱 m/e(相对强度, %) 376(痕量)M⁺, 344.1628(100)[C₂₀H₂₄O₅, (M-CH₃OH)], 316.1672(8) (C₁₉H₂₄O₄), 298, 1563(9) (C₁₉H₂₂O₃), 181.1230(17) (C₁₁H₁₇O₂), 167.1069(10) (C₁₀H₁₅O₂), 149.0960(95) (C₁₀H₁₃O); 紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 235 nm (ϵ 7390); 红外光谱 ν_{\max} cm⁻¹ 3445, 1753, 1715, 1640, 1265, 1060; ¹H 核磁共振谱 δ 6.00, 5.41(各 1H, S, C₁₇-H₂), 4.74(1H, S, C₆-H), 4.42(1H, dd, J=8 和 10 Hz, C₁- β H), 4.10(1H, m, C₁₁-H), 4.02, 3.82(各 1H, d, J=10 Hz, C₂₀-H₂), 3.08(1H, dd, J=4 和 10 Hz, C₁₃-H), 2.86(1H, S, C₅-H), 2.40(1H, d, J=12 Hz, C₁₄- β H), 2.12(1H, d, J=10 Hz, C₉-H), 0.95, 1.00(各 3H, S, C₄-Me₂)。

毛叶香茶菜素 A 3 水解成 epinodosin 6

将 17.5 mg 毛叶香茶菜素 A 溶于 2 ml 醋酸水溶液(1:1)中回流 3 小时, 薄层析检查呈单一色点, 冷却析出白色结晶, 水洗, 干燥得白色结晶 8 mg, 熔点 224~226°C。紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 235 nm (ϵ 7760); 红外光谱 ν_{\max} cm⁻¹ 3320, 1755, 1718, 1645, 1270, 1050; 质谱 m/e(相对强度, %) 362(痕量)(M⁺), 344(58), 329(17), 314(45), 286(16), 217(14), 167(17), 150(43), 149(100); ¹H 核磁共振谱 δ (C₅D₅N) 5.97, 5.33(各 1H, S, C₁₇-H₂), 5.73(1H, S, C₆-H), 4.92(1H, t, J=8.5 Hz, C₁- β H), 4.80, 4.30(1H, m, C₁₁-H), 4.44, 4.29(各 1H, d, J=10 Hz, C₂₀-H₂), 3.25(1H, S, C₅-H), 3.10-2.60(4H), 1.00(6H, S, C₄-Me₂), 与 epinodosin 的文献数据一致⁽³⁾。

毛叶香茶菜素 B 7, 无色棱晶, 熔点 182~184°C, $[\alpha]_D^{13} 130.6$ (C=2.20, 吡啶), 质谱, m/e(相对强度, %) 448.2118(51)(M⁺)(C₂₄H₃₂O₈), 406.1997(64)(C₂₀H₃₀O₇), 388.1900(54) (C₂₂H₂₈O₆), 346.1796(83) (C₂₀H₂₆O₅), 328.1683(68) (C₂₀H₂₄O₄), 247.0975(70) (C₁₄H₁₅O₄), 229.0865(84) (C₁₄H₁₃O₃); 紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 230 nm (ϵ 7750); 红外光谱 ν_{\max} cm⁻¹ 3450, 1740, 1720, 1640, 1235, 1054, 875; ¹H 核磁共振谱 δ 6.10, 5.60(各 1H, S, C₁₇-H₂), 5.12(1H, t, J=8 Hz, C₁- β H), 4.88, 4.30(各 1H, d, J=12 Hz, C₂₀-H₂), 4.25(2H, m, C₆-H₂), 4.00(1H, m, W_{1/2} ≥ 28 Hz, C₁₁- β H), 3.10(1H, dd, J=10 和 4 Hz, C₁₃-H), 2.72(1H, m, C₅-H), 2.68(1H, d, J=11 Hz, C₉-H), 2.04(6H, S, 2 XOAC), 1.04(6H, S, C₄-Me₂)。

乙酰化毛叶香茶菜素 B 9

20 mg 毛叶香茶菜素 B 于 1 ml 醋酸酐和 0.5 ml 吡啶溶液中放置过夜, 常法处理, 由乙醇结晶得 9, 熔点 164~165°C; 紫外光谱 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 231 nm (ϵ 7100); 红外光谱 ν_{\max} cm⁻¹ 1746, 1725, 1645, 1235, 1055; 质谱 m/e(相对强度, %) 448(58) (M-CH₂=C=O), 406(9) (M-2×CH₂=C=O), 388(13) (M-HOAC-CH₂=C=O), 346(13) (M-HOAC-2×CH₂=C=O), 328(12) (M-2×HOAC-CH₂=C=O); ¹H 核磁共振谱 δ 6.15, 5.60(各 1H, S), 4.00-5.20(6H, m), 2.03, 2.05(9H, 3×OAC), 1.02, 1.08(各 3H, S); 元素分析 C₂₅H₃₄O₉ 计算值 %C 63.67; H 6.94, 实验值 %C 63.87, H 7.025。

6-去乙酰毛叶香茶菜素 B 10

10 mg 毛叶香茶菜素 B 于 2 ml 无水乙醇和 2 ml 1N HCl 溶液中回流 4.5 小时, 常法处理,

由甲醇得无色棱晶 10, 熔点 266~268°C; $[\alpha]_D^{25} 91.2$ ($C=1.02$, 吡啶); 紫外光谱 $\lambda_{\max}^{MeOH} 230nm$ ($\epsilon 8100$); 红外光谱 $\nu_{\max} cm^{-1} 3440, 1740, 1710, 1640, 1235, 1065$; 1H 核磁共振谱 δ (C_5D_5N) 6.00, 5.41 (各 1H, S, $C_{17}-H_2$), 5.55 (1H, t, $J=8Hz, C_1-\beta H$), 5.16, 4.90 (各 1H, d, $J=12Hz, C_{20}-H_2$), 3.97 (2H, d, C_6-H_2), 4.34 (1H, m, $W_{1/2}=28Hz, C_{11}-\beta H$), 3.02 (2H, m, $C_{13}-H$ 和 C_5-H), 3.24 (1H, d, $J=12Hz, C_9-H$), 2.17 (3H, S, OAc), 0.88, 0.98 (各 3H, S, C_4-Me_2); 质谱 $m/e 406, 1984(M^+)$ ($C_{22}H_{30}O_7$, 计算值 406.199), 388, 346, 328, 247, 229.

6-去乙酰毛叶香茶菜素 B 10 的氧化反应

将 10 (284mg) 溶于 5ml 吡啶中, 加入等克分子的 $P_6(OAc)_4$, 待反应完成后, 常法处理, 硅胶柱层析分离得一油状物, 由甲醇结晶, Rf 值, 红外光谱, 1H 核磁共振谱和对照样品 isodonal 相同。

毛叶香茶菜素 C 4, 熔点 245~248°C (Et OAc), $[\alpha]_D^{25} -30$ ($C=0.10, 95\%Et OH$); 紫外光谱 λ_{\max}^{MeOH} 末端吸收; 红外光谱 $\nu_{\max} cm^{-1} 3225, 1072, 1037$; 质谱 m/e (相对强度, %) 366 (9) (M^+), 348 (100), 330 (62), 320 (11), 312 (30), 302 (28), 183 (52), 149 (36); 1H 核磁共振谱 δ (C_5D_5N) 5.52 (2H, S, $C_{17}-H_2$), 4.91 (1H, S, $C_{14}-2H$), 5.21 (1H, S, $C_{15}-H$), 4.68, 4.28 (各 1H, d, $J=10Hz, C_{20}-H_2$), 4.12 (1H, d, $J=6Hz, C_6-H$), 3.60 (1H, t, $J=8Hz, C_1-\beta H$), 1.56 (1H, d, $J=6Hz, C_5-H$), 1.10, 1.05 (各 3H, S, C_4-Me_2), 与 enmenol 文献数据一致⁽⁵⁾。

毛叶香茶菜素 D 5, 熔点 237~240°C (MeOH), 272~274°C (Me_2CO), $[\alpha]_D^{32} -87.5$ ($C=0.08$, 吡啶); 紫外光谱, 红外光谱, 1H 核磁共振谱与 epinodo sinol 文献数据一致⁽³⁾。

致谢 北京药物所梁晓天教授, 河南医科所张覃沐付教授曾给予指导, 南京药物所程培元赠 isodonal, 张占旺, 姚苗, 王颖, 上海药物所王保德, 沈春镒, 北京化学所王光辉, 南京化工所金一测定部分光谱, 一并致谢。

参 考 文 献

1. 池田铁太郎, 他: クロバナヒキオコシ成份の研究. 薬学雑誌 (日) 78:1128, 1958
2. Fujita E, et al: Terpenoids. VII. The structure and absolute configuration of nodosin, a new diterpenoid from *Isodon* species. *Chem Pharm Bull* 16:509, 1968
3. Fujita E, et al: Terpenoids XXIV. Isolation of isodonal and epinodosin from *Isodon japonicus* and structure elucidation of sodoonin and epinodosinol, novel diterpenoids of the same plant. *Ibid* 21:1357, 1973
4. Kubo I, et al: Studies on constituents of *Isodon japonicus* Harat. The structures and absolute stereochemistry of isodonal, trichodonin and epinodosin. *Tetrahedron* 30:615, 1974
5. Mori S, et al: Studies on the constituents of *Isodon trichocarpus* Kudo. I. Isolation of the constituents and the structures of isodonol, emmedol, and enmenol. *Chem Pharm Bull* 18:871, 1970

STUDIES ON THE ANTITUMOR CONSTITUENT OF *RABDOSIA JAPONICA* (BURM. F) HARA.

THE STRUCTURES OF RABDOSIN A AND B

LI Ji-cheng, LIU Chen-jiang, AN Xin-zong, WANG Mao-tian*, ZHAO
Tian-zeng*, YU Shou-zhi*, ZHAO Gen-suo* and CHEN Rong-feng*

(Henan Medical Institute, Zhengzhou; *Henan Institute of Chemistry, Zhengzhou)

ABSTRACT

Four diterpenoids were isolated from the dried leaves of *Rabdosia japonica* (Burm.f) Hara. Two new diterpenoids were named as rabdosin A and B. Spectroscopic investigation and chemical conversion into epinodosin(6) and isodonol(8) established the structures of rabdosin A and B as(3) and(7) respectively. Antitumor activity has been tested preliminarily, both (3) and (7) showed significant cytotoxicity. The other two diterpenoids were shown to be identical with the known enmenol (4) and peinodosinol (5).

Key words *Rabdosia japonica* (Burm. f); Rabdosin A; Rabdosin B; Epinodosinol; Enmenol