

[研究简报]

大萼香茶菜中的新二萜化合物

石浩¹, 何山¹, 何兰², 潘远江¹

(1. 浙江大学化学系, 杭州 310027; 2. 北京师范大学化学系, 北京 100085)

关键词 大萼香茶菜; B断裂贝壳杉烯; 大萼香茶菜癸素

中图分类号 O629.6⁺1

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)01-0100-03

大萼香茶菜 *Rabdosia macrocalyx* (Dunn) Hara 系唇形科 Labiatae 香茶菜属 *Rabdosia* 植物, 主要分布于安徽、江苏、浙江、江西、福建、湖南、广东、广西和台湾等省, 民间用于治疗肿瘤等疾病. 从该植物及其变种中分离得到的二萜类化合物具有抗菌消炎及抗肿瘤等多种生理活性^[1~7].

我们曾报道了大萼香茶菜壬素的晶体结构^[8], 本文报道从大萼香茶菜叶的乙醇提取物中分离得到一种新的二萜类化合物, 并命名为大萼香茶菜癸素(**1**). 其药理活性实验结果证明, 该化合物对体外培养的 HeLa 细胞有较强的抑制作用.

1 实验部分

1.1 仪器与样品 X4 型显微熔点仪; CarloErba EA1110 型元素分析仪; Nicolet 470 FTIR 型红外光谱仪, KBr 压片; JASCO V530 型仪; Bruker Esquire-3000plus 型质谱仪; Bruker Apex III 傅里叶变换高分辨质谱仪. Bruker AM-500 型核磁共振仪; 柱层析和薄层层析硅胶(200~300目)为青岛海洋化工厂生产. 植物样品采自浙江省天目山, 由浙江大学生命科学院倪士峰博士鉴定.

1.2 提取和分离 将 5 kg 大萼香茶菜叶粉用体积分数为 90% 的乙醇加热回流提取 3 次, 过滤, 浓缩, 得粗提物 472 g. 用乙酸乙酯萃取, 萃取液经浓缩得到 197 g 乙酸乙酯粗提物. 乙酸乙酯粗提物经硅胶拌样进行硅胶柱层析, 用氯仿-丙酮(体积比 20:1)洗脱, 得乙酸乙酯细部分位. 该细部分位经反复硅胶柱层析得到化合物 **1** (23 mg). 化合物 **1** 为白色粉末, 产率 0.0005%; m. p. 253~255 °C; $[\alpha]_D^{25}$: -127.67 (c 0.71, MeOH); UV-Vis (Methanol), λ_{max} : 233 nm; IR (KBr), $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$: 3492, 3456, 2947, 2931, 1741, 1698, 1640; ESI-MS, m/z : 443.0 $[M + Na]^+$; 元素分析实测值(%), C₂₂H₂₈O₈ 计算值): C 62.85(62.83), H 6.71(6.72), O 30.44(30.45).

1.3 抗肿瘤活性测定 取处于对数生长期的 HeLa 细胞, 加入适量的 Trypsin 液消化, 使贴壁细胞脱落, 用 10 mL 含质量分数为 10% 的新生牛血清的 RPMI1640 培养液配成单细胞悬液. 计数后, 用完全培养液稀释成 1×10^5 个/mL 的细胞悬液. 取 96 孔板, 每孔加上述细胞悬液 100 μL , 在含体积分数为 5% CO₂ 的培养箱于 37 °C 培养 24 h. 依次加入 6 个浓度的化合物 **1** 和 DMSO, 每个浓度 4 孔. 于前述培养箱条件下继续培养 48 h, 培养终止前 2 h, 每孔加入 1 mg/mL MTT 100 μL , 继续温育 4 h, 吸去上清液, 每孔加入 150 μL 酸性 DMSO, 摇匀, 用酶标仪于 570 nm 处测定每个小孔的 OD 值. 重复 3 次实验. 用 Bliss 法求出 IC₅₀.

2 结果与讨论

化合物 **1** 的 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1, 主要的 HMBC 相关关系见图 1, 主要的 NOESY 相关关系见图 2. 根据化合物 **1** 的 HR-ESI-MS 给出 $[M + Na]^+$ 峰值 443.1685 确定其分子式为 C₂₂H₂₈O₈ (计算值: 443.1676). IR 谱图中出现两个羟基(3492, 3456 cm⁻¹)、酯羰基(1741 cm⁻¹)、酮羰基(1698

收稿日期: 2006-01-15.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 20472073)和浙江省自然科学基金(批准号: Y404357)资助.

联系人简介: 潘远江(1966 年出生), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事天然药物化学研究. E-mail: panyuanjiang@zju.edu.cn

cm^{-1})和碳碳双键(1640 cm^{-1}). ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱显示, 分子中存在 2 个甲基(δ_{H} 0.97, 1.01 和 δ_{C} 33.1, 23.2), 一个与环外亚甲基共轭的酮结构(δ_{H} 6.16, 5.49 和 δ_{C} 119.6, 149.2, 199.5), 一个内酯羰基(δ_{C} 167.9), 以及 4 个 CH_2 和 7 个 CH 基团(其中 5 个携氧碳)、3 个季碳和一个乙酰氧基. 根据上述光谱数据, 对照香茶菜属植物已经发现的二萜类化合物的结构^[1,2,9], 推断化合物 **1** 应属 B 断裂贝壳杉烯(B-seco-ent-kaurene)型二萜骨架^[10], 且化合物 **1** 的结构(图 3)与大萼香茶菜甲素^[2]结构(图 4)近似, 前者仅比后者少了一个乙酰氧基, 而多了一个羟基.

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR data and ^1H - ^1H COSY, HMBC and key NOESY correlations of compound **1** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

C	δ_{C}	δ_{H} (J/Hz)	^1H - ^1H COSY	HMBC(H→C)	Key NOESY
1	78.2	6.09 t(8.5)	H2 α , H2 β	C2, C9	H3 β
2	24.0	α 1.86 m β 1.84 m	H1, H2 β , H3 α , H3 β H1, H2 α , H3 α , H3 β	C1, C3, C10 C1, C3, C10	H19 H183
3	7.2	α 1.48 m β 1.29 m	H2 α , H2 β , H3 β H2 α , H2 β , H3 α	C1, C5	H1
4	31.6				
5	55.7	2.74 s		C4, C6, C10, C18, C19	H11, H18
6	102.0	5.82 s		C4, C10, C20	H19
7	167.9				
8	61.3				
9	51.9	3.31 s	H11	C1, C10, C20	H11, H20 β
10	50.2				
11	65.8	5.25 s	H9, H12 β		H5, H9, H20 β
12	42.2	α 2.79 m β 2.08 m	H11, H12 β H12 α , H13	C9, C11, C13	H22
13	41.2	3.40 d(9.0)	H12 α , H14	C8, C11, C12, C14	H14, H17b
14	74.5	7.37 s	H13	C9, C15, C16, C21	H13
15	199.5				
16	149.2				
17	119.6	a 6.16 br. s b 5.49 br. s	H17b H17a	C13, C15, C16 C13, C15	H13
18	23.2	1.01 s		C3, C4, C5	H2 β , H5
19	33.1	0.97 s		C3, C4, C5	H2 α , H6
20	74.1	α 4.54 d(9.0) β 4.35 d(9.0)	H20 β H20 α	C5, C6, C9, C10 C1, C9	H9, H11
21	170.8				
22	21.1	2.05 s		C21	H12 α

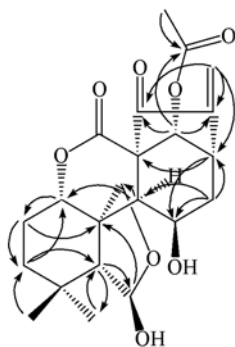


Fig. 1 Key HMBC correlations of compound **1**(H→C)

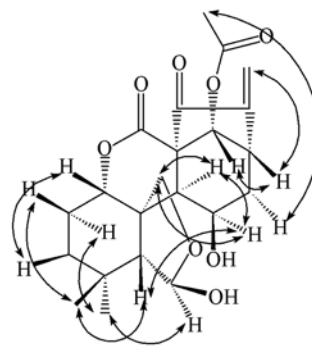


Fig. 2 Key NOESY correlations of compound **1**

从 HMBC 谱(图 1)可以发现 δ_{H} 2.05(H22)和 δ_{H} 7.37(H14)都与 δ_{C} 170.8(C21)有远程相关, 说明化合物 **1** 中唯一的一个乙酰氧基应连接在 C14 上. 由于甲素的另一个乙酰氧基连接在 C11 上, 因此推测化合物 **1** 的 C11 上连接了一个羟基. ^{13}C NMR 谱中显示携氧叔碳信号 δ_{C} 65.8(C11), 结合 HMQC 谱把 δ_{H} 5.25 归属为 H11. C11 和 H11 的化学位移证实了 C11 上连接了一个羟基. NOESY 谱显示, δ_{H} 5.25(H11)与 δ_{H} 2.74(H5), δ_{H} 3.31(H9), δ_{H} 4.35(H20 β)有相关关系, 从而确定 C11 上的羟基在 β 位; δ_{H} 5.82(H6)与 δ_{H} 0.97(H19)有相关关系, 从而确定 C6 上的羟基在 β 位. 其它手性碳的相对构型

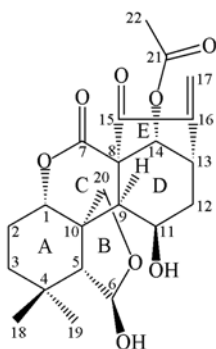


Fig. 3 Structure of compound 1

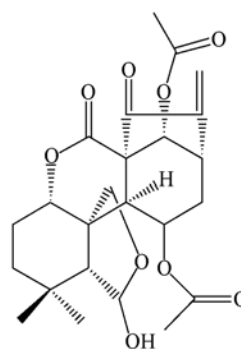


Fig. 4 Structure of macrocalyxin A

与大萼香茶菜甲素对应碳的相对构型相同,并由 NOESY 谱(图 2)得到进一步确认。

综合上述分析,将化合物 1 的化学结构和相对构型鉴定为 $(1\alpha, 6\beta, 11\beta, 14\alpha)$ -1,7:6,20-Diepoxy-6,11-dihydroxy-6,7-seco-ent-kaur-16-ene-7,15-dione-14-acetate(图 3)。

生物活性实验结果表明,化合物 1 对 Hela 显示较强的体外抑制活性,最大抑瘤率在 95% 以上, $IC_{50} = 31.597 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

参 考 文 献

- [1] CHENG Pei-Yuan(程培元), LIN Yong-Le(林永乐), XU Guang-Yi(徐光漪). Acta Pharm. Sin. (药学报)[J], 1984, **19**: 593—598
- [2] WANG Xian-Rong(王先荣), WANG Zhao-Quan(王兆全), DONG Jin-Guang(董金广), et al. Acta Bot. Sin. (植物学报)[J], 1984, **26**: 425—431
- [3] WANG Xian-Rong(王先荣), WANG Zhao-Quan(王兆全), DONG Jin-Guang(董金广). Acta Bot. Sin. (植物学报)[J], 1985, **27**: 285—289
- [4] WANG Zhao-Quan(王兆全), WANG Xian-Rong(王先荣), DONG Jin-Guang(董金广), et al. Acta Bot. Sin. (植物学报)[J], 1986, **28**: 185—191
- [5] WANG Zhao-Quan(王兆全), WANG Xian-Rong(王先荣), DONG Jin-Guang(董金广), et al. Acta Bot. Sin. (植物学报)[J], 1986, **28**: 79—85
- [6] CHEN Shu-He(陈澍禾), WANG Jing(王静), NI Guang-Yu(倪光玉). Chin. Trad. Herb. Drugs(中草药)[J], 1984, **19**: 547—548
- [7] Wang X., Wang H., Hu H., et al. Phytochemistry[J], 1995, **38**: 921—926
- [8] Shi H., Pan Y., Wu S., et al. Acta Cryst. [J], 2002, **C58**: o55—o56
- [9] Zhao A., Zhang Y., Xu Z., et al. Helv. Chim. Acta[J], 2004, **87**: 3160—3166
- [10] Fujita E., Nagao Y., Node M. Heterocycles[J], 1976, **5**: 793—838

New Diterpenoid Compound from *Rabdosia macrocalyx*

SHI Hao¹, HE Shan¹, HE Lan², PAN Yuan-Jiang^{1*}

(1. Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China;

2. Department of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100085, China)

Abstract On the basis of the investigation on natural product antitumor agents, a new diterpenoid named macrocalyxin J was isolated from the leaves of *Rabdosia macrocalyx*(Dunn) Hara by silica gel column chromatography. Based on IR, MS, ¹H NMR, ¹³C NMR and 2D NMR spectroscopies, the structure of macrocalyxin J was determined as $(1\alpha, 6\beta, 11\beta, 14\alpha)$ -1,7:6,20-diepoxy-6,11-dihydroxy-6,7-seco-ent-kaur-16-ene-7,15-dione-14-acetate. The antitumor activity of the compound was assayed by MTT method. Macrocalyxin J was shown to have a potency *in vitro* against the cultures of Hela cells.

Keywords *Rabdosia macrocalyx*; B-seco-ent-kaurene; Macrocalyxin J

(Ed. : H, J, Z)