

滇姜花抗肿瘤活性二萜及其光敏氧化反应的研究*

1 赵 庆 2 郝小江** 3 陈耀祖 4 邹 澄 2 洪 鑫

1(云南中医学院药学系 昆明 650200)

2(中国科学院昆明植物研究所植物化学开放研究实验室 昆明 650204)

3(兰州大学化学系 兰州 730000)

4(昆明医学院药学系 昆明 650031)

摘要 从滇姜花(*Hedychium yunnanense* Gagnep.)根茎中分离到两个具抗肿瘤活性的二萜成分滇姜花素C及滇姜花素A,前者为新化合物,其结构经波谱及化学方法鉴定。此新化合物亦可从滇姜花素A的光敏氧化反应产物中分离得到。

关键词 滇姜花, 滇姜花素C, 二萜, 抗肿瘤活性, 光敏氧化反应

Antitumor Diterpenoids from *Hedychium yunnanense* and Their Photosensitized Oxidation*

1 ZHAO Qing 2 HAO Xiao-Jiang** 3 CHEN Yao-Zu 4 ZOU Cheng 2 HONG Xin

1(Faculty of Pharmacy, Yunnan Traditional Chinese Medical College, Kunming 650200)

2(Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204)

3(Department of Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

4(Faculty of Pharmacy, Kunming Medical College, Kunming 650031)

Abstract Two antitumor active diterpenoids, yunnancoronarin C and yunnancoronarin A, were isolated from the rhizome of *Hedychium yunnanense* Gagnep. The former is a new compound, whose structure was determined by spectra and chemical methods. Yunnancoronarin C could also be obtained from photosensitized oxidation of yunnancoronarin A as a minor product.

Key words *Hedychium yunnanense*, yunnancoronarin C, Diterpenoid, Antitumor activity, Photosensitized oxidation

滇姜花系姜科(Zingiberaceae)姜花属植物,分布于我国云南省。我们曾从滇姜花根茎中分离并鉴定了5个半日花烷型二萜(包括两个新成分),其中的4个对KB细胞具有不同程度的体外抗肿瘤活性^[1,2]。为了寻找具较高活性的二萜衍生物,我们首先进行了呋喃类二萜成分的光敏氧化反应,将hedychenone氧化为一系列衍生物^[3]。此后,我们又从该植物分离到一个新二萜成分——滇姜花素C(I),其结构经光谱及化学方法推定。此外还分离得到已知化合物滇姜花素A(II)^[1]。用MTT法测定,I对KB细胞具有显著的抗肿瘤活性,IC₅₀=1.76 μg/mL。II的IC₅₀=7.60 μg/mL。

滇姜花素C(yunnancoronarin C, I) 无色油状物。[α]_D=+27.1°(c 0.35, CHCl₃)。EIMS m/e

(%): 332(M⁺, 1), 162(43), 109(50), 91(50), 79(43), 77(51), 69(100), 55(71), 43(43), 41(94); 由HRMS得到(M+1)峰质荷比测定值为333.1978,由此可知分子式为C₂₀H₂₈O₄(计算值为333.2066)。IR示有羟基(3350 cm⁻¹)、α,β-不饱和内酯(1730 cm⁻¹)和环外双键(3070, 1645, 889 cm⁻¹)存在。UV在265 nm有强吸收(ε=21900),这表明不饱和内酯环与一个烯键共轭。¹H-NMR也示有一个与吸电子基团共轭的反式烯键(见表2的H-11、H-12的¹H-NMR数据)。¹³C-NMR显示了α,β-不饱和内酯(δ172,季碳)与半缩醛(δ98,CH)的存在。I与吐伦试剂可显正反应,验证了半缩醛基团的存在;此外,I可溶于NaOH水溶液中(见实验部分),也验证了分子中存在内酯基团。将I的NMR

* 昆明植物研究所植物化学开放研究实验室资助项目。Supported by a project of the Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences.

** 通讯联系人。Author for correspondence.

收稿日期:1998-07-31 接受日期:1998-09-24

数据与已知二萜滇姜花素 A (Ⅱ)、B (Ⅲ) 对照, 表明 I 也是 labdane 型二萜, 且 I 的 A、B 环构型、C-9 位构型及 6 位羟基取代方式与 Ⅱ、Ⅲ 完全一样, 差别仅在于 C-9 位的侧链氧化程度不同。综上所述, I 的结构应如图 1 所示, 该结构与 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 及 DEPT、HRMS 完全符合。虽然 I 在许多色谱系统中均表现为单一成分, 但 $^{13}\text{C-NMR}$ 与 $^1\text{H-NMR}$ 表明它实际上是一对异构体的混合物。C-16 位羟基取向不同应是产生异构现象的唯一原因。根据 I 的 $^1\text{H-H}$ cosy 与 $^{13}\text{C-}^1\text{H}$ cosy 图谱, 并将 I 的 $^1\text{H-NMR}$ 及 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据与类似化合物 Ⅱ 和 Ⅲ 进行比较, 对 I 的 NMR 数据作了归属(表 1 和表 2), 并由 HMBC 谱作了进一步证实(表 3)。

Ⅱ 经光敏氧化, 其产物之一的 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 与 I 的完全一致, 故可确定该产物是 I; 同时也证明 I 的结构应如图 1 所示。

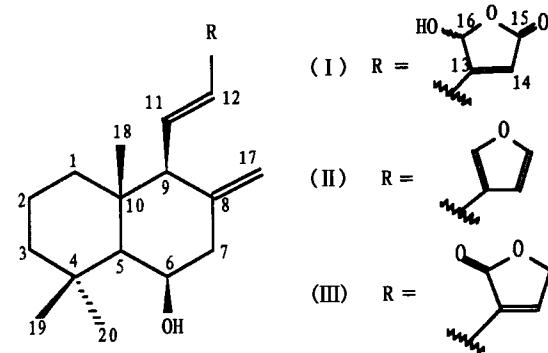


图 1 化合物 I ~ Ⅲ 的结构

Fig.1 Structures of compound I ~ Ⅲ

表 1 二萜 I、Ⅱ 和 Ⅲ 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ data of diterpenes I, Ⅱ and Ⅲ

C	I	Ⅱ	Ⅲ	C	I	Ⅱ	Ⅲ
1	43.8(t)	43.7(t)	43.7(t)	11	143.1(d)	122.2(d)	135.9(d)
2	19.1(t), 19.2(t)	19.3(t)	19.2(t)	12	123.1(d), 123.0(d)	127.3(d)	121.0(d)
3	43.9(t), 44.0(t)	44.1(t)	44.1(t)	13	161.3(s)	124.3(s)	129.4(s)
4	34.5(s)	34.4(s)	34.4(s)	14	115.7(d)	107.6(d)	142.6(d)
5	56.5(d)	56.9(d)	56.8(d)	15	172.0(s)	139.9(d)	69.5(t)
6	68.8(d)	68.9(d)	68.9(d)	16	98.0(d)	143.2(d)	72.2(s)
7	46.1(t)	46.6(t)	46.5(t)	17	112.4(t), 111.9(t)	111.5(t)	111.8(t)
8	144.6(s), 144.8(s)	146.0(s)	145.3(s)	18	33.5(q)	33.6(q)	33.5(q)
9	62.5(d)	61.9(d)	62.6(d)	19	23.9(q)	23.8(q)	23.8(q)
10	40.4(s), 40.6(s)	40.2(s)	40.3(s)	20	18.1(q)	17.9(q)	18.0(q)

表 2 二萜 I、Ⅱ 和 Ⅲ 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱数据

Table 2 $^1\text{H-NMR}$ data of diterpenes I, Ⅱ and Ⅲ

H	I	Ⅱ	Ⅲ
H-6	4.47(br.s)	4.38(d, $J = 1.6$ Hz)	4.36(br.s)
H-7	2.41(s), 2.36(s)	2.39(d, $J = 2.9$ Hz)	2.36(d, $J = 2.6$ Hz)
H-9	2.46(d, $J = 10.4$ Hz)	2.43(d, $J = 9.8$ Hz)	2.38(d, $J = 10.1$ Hz)
H-11	6.61(dd, $J = 10.4, 15.8$ Hz), 6.58(dd, $J = 10.4, 15.8$ Hz)	6.01(dd, $J = 9.8,$ 15.7 Hz)	6.91(dd, $J = 10.1,$ 15.8 Hz)
H-12	6.24(d, $J = 15.8$ Hz)	6.20(d, $J = 15.7$ Hz)	6.10(d, $J = 15.8$ Hz)
H-14	5.80(s), 5.79(s)	6.53(s)	7.16(s)
H-15		7.33(d, $J = 1.52$ Hz)	4.78(s)
H-16	6.31(s), 6.27(s)	7.34(s)	
H-17a	4.63(s), 4.75(s)	4.78(s)	4.74(s)
H-17b	4.92(s)	4.91(s)	4.89(s)
H-18	0.99(s)	1.00(s)	0.97(s)
H-19	1.20(s)	1.23(s)	1.19(s)
H-20	1.15(s), 1.16(s)	1.14(s)	1.14(s)

表 3 从 HMBC 实验中观察到的²J 和³J C-H 偶合
Table 3 ²J and ³J C-H couplings observed through an HMBC experiment

¹ H signal	² J C-H coupling	³ J C-H coupling
H-6	-	C-8 C-10
H-7	C-6 C-8	C-5 C-9
H-9	C-8 C-10 C-11	C-12 C-20
H-11	-	C-13
H-12	C-13	C-9 C-14 C-16
H-14	C-13 C-15	C-12 C-16
H-16	-	C-14 C-15

1 实验部分

核磁共振光谱用 Bruker Am-400 超导核磁共振仪测定, CDCl₃ 为溶剂; 质谱用 Finnigan-4510 型质谱仪测定, EI 源, 70 eV; 高分辨质谱用 VG Autospec 300 质谱仪测定, FAB 源; 红外光谱用 Perkin-Elmer 577 分光光度仪测定, 样品采用涂膜法; 紫外光谱用 210A 型分光光度计测定; 旋光用 WXC-6 型自动旋光仪测定。

1.1 滇姜花素 C (I) 与 A (II) 的分离

滇姜花 (*Hedychium yunnanense* Gagnep.) 的根采于昆明官渡区, 干重 2.7 kg, 研碎后用 95% 乙醇冷浸 3 次, 合并浓缩得棕色浸膏 170.4 g。取 140 g 浸膏, 用石油醚和苯各提取 3 次, 合并浓缩得 107 g 棕色油。将棕色油与 200 g 粗硅胶混合, 依次用石油醚、石油醚-乙酸乙酯 (3:1)、甲醇浸提, 得到 A、B、C 三个馏份。B 份 29.8 g, 经硅胶柱层析, 石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱。在 3:1 洗脱部分得到 4.32 g 油状物, 经反复硅胶柱层析 (氯仿-乙酸乙酯 5:1; 氯仿-丙酮 30:1; 氯仿-甲醇 80:1), 得到 I 211 mg (0.01%)。A 份 55.6 g, 经硅胶柱层析 (石油醚-乙酸乙酯), 在 20:1 洗脱部分得到 8.33 g 油状物, 再经氧化铝柱层析 (石油醚-乙酸乙酯 40:1), 得到 II 2.13 g

(0.08%)。

鉴定反应: 用毛细管吸取少量 I 的乙醇溶液及同样体积的吐伦试剂, 封管后于沸水浴加热 5 min, 出现黑色沉淀; 同时作空白试验。

1.2 滇姜花素 A (II) 的光敏氧化反应

取 2.00 g II 溶于 300 mL 甲醇, 加入 50 mg 亚甲基蓝 (光敏化剂), 在日光下于室温反应 1 h。挥干溶剂, 残余物用硅胶柱分离 (石油醚-乙酸乙酯), 得到 A、B、C、D、E 五个馏份, 其中馏份 D 用 TLC 检出 I 的存在。将馏份 D 溶于 150 mL CHCl₃, 用 150 mL 0.05 mol/L NaOH 萃取。水层再用 100 mL CHCl₃ 洗涤。合并 CHCl₃ 层, 水洗至中性, 挥干溶剂, 得到的残余物用 TLC 检测不到 I, 表明 I 不在 CHCl₃ 层。水层用浓 HCl 酸化至 pH 4 后, 以 200 mL 乙酸乙酯萃取, 乙酸乙酯层用水洗至中性, 挥干溶剂, 得到 116 mg 产物。该产物的¹H-NMR 与¹³C-NMR 谱与 I 的完全一致, 证实该产物是滇姜花素 C。

致谢 昆明植物研究所童绍全副研究员鉴定原植物, 植物化学开放研究实验室仪器组测试各种波谱, 国家医药管理局四川抗菌素研究所闵乐副研究员测试体外抗肿瘤活性; 一并致谢。

参 考 文 献

- Zhao Q(赵庆), Hao X-J(郝小江), Chen Y-Z(陈耀祖), Zou C(邹澄). Studies on diterpenoid constituents of *Hedychium yunnanense*. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1995, **16**(1): 64~67 (in Chinese)
- Zhao Q(赵庆), Hao X-J(郝小江), Chen Y-Z(陈耀祖), Zou C(邹澄). Studies on diterpenoids from *Hedychium forrestii* and their antitumor activity. *Acta Pharmaceutica Sin* (药学学报), 1995, **30**: 119~121 (in Chinese)
- Zhao Q(赵庆), Hao X-J(郝小江), Chen Y-Z(陈耀祖), Zou C(邹澄). Studies on photosensitized oxidation of diterpenoids from Genus *Hedychium*. *Chin Chem Lett* (中国化学快报), 1996, **7**(1): 25~28 (in Chinese)