

卢氏冬凌草素的结构

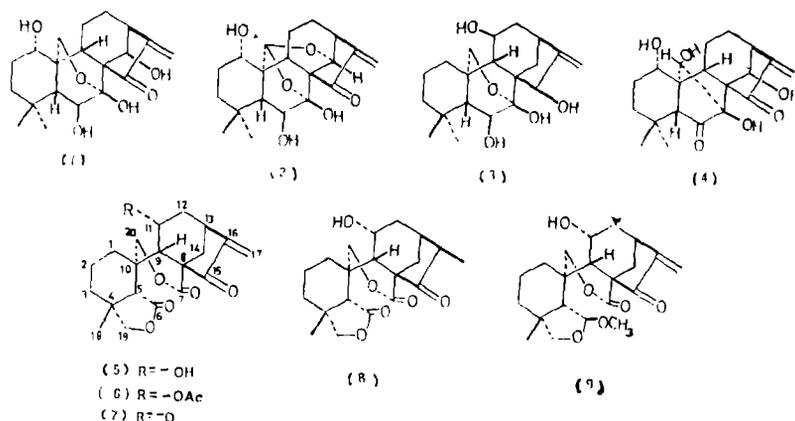
郑新荣 高增义

(河南省科学院生物研究所)

孙汉董* 林中文

(中国科学院昆明植物研究所)

冬凌草 [*Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara] 为唇形科香茶菜属植物, 是近年来河南省从民间发掘出来的一种具有对多种动物移植性肿瘤有一定的抗肿瘤作用, 对食管癌、肝癌以及扁桃腺炎、咽喉炎、口腔炎等有一定疗效的植物药〔1, 2〕。对河南省济源县产的冬凌草, 其化学成份已进行了研究〔3, 4, 5〕, 从中分离鉴定了四个对映-贝壳杉烯型 (ent-kaurene type) 二萜化合物, 分别命名为冬凌草甲素 (rubescensin A = oridonin) (1), 乙素 (rubescensin B = ponacidin) (2), 丙素 (rubescensin C) (3), 和丁素 (rubescensin D) (4), 其中丙素 (3), 丁素 (4) 为新化合物, 但其生理活性成分为甲素 (1) 和乙素 (2)〔6, 7〕。在进一步深入研究和开发利用河南省的冬凌草药物资源时我们发现, 不同地区产的冬凌草不仅其所含二萜化合物及其含量不同, 而且其生理活性也有很大差异。为了给医药部门更加合理地充分利用这一丰富的药物资源提供科学依据, 我们对河南省具有代表性地区的冬凌草的化学成分进行了研究, 得到了一些十分有趣的发现。本文报道从卢氏县所产冬凌草中的主要二萜成分, 命名为卢氏冬凌草素 (ludongnin) (5) 的化学结构研究。这是从香茶菜属植物中分离得到的第一个在 C_{20} — C_{19} 之间具有一个 γ -内酯环的新化合物。药理研究表明, 卢氏冬凌草素对 ECA, S_{180} , P_{333} 等移植性动物肿瘤有明显的抗肿瘤活性, 将另文报告。



本文于1983年12月8日收到。

*通讯联系人

ludongnin (5) 无色鳞片状结晶, mp 265—267°C, $[\alpha]_D^{25} -94.1^\circ$ ($C=0.68$, 吡啶), 元素分析和MS测定, 其分子式为 $C_{20}H_{24}O_6$ (M^+360)。从UV λ_{max} (EtOH): 231 nm ($\epsilon 7135$), IR ν_{max}^Kz 1693, 1643 cm^{-1} 的吸收; 1H NMR (C_5D_5N) δ : 6.16 和 5.50 (各1H, s) 以及 ^{13}C NMR (图1) δ : 200.0 (s, 酮), 150.9 (s), 118.7 (t) 的信号表明, 化合物(5)存在着一个与环外亚甲基共轭的五元环酮部份。又 ν_{max} 1739 cm^{-1} ; 1H NMR δ 5.40 (1H, AB型 d, $J=2, 12$ Hz), 5.25 1H, AB型 d, $J=12$ Hz) 以及 ^{13}C NMR δ 172.0 (s, 内酯) 和 71.6 (t) 的信息提示(5)含有一个 δ -内酯环。但与香茶菜属植物中的 B-seco-ent-kaurene 型化合物^[8]所含 δ -内酯不尽相同, 即化合物(5)中的 δ -内酯环的氧原子是和季碳原子之间的亚甲基相连, 而不是像通常的与一个叔碳原子相连, 因此可推定化合物(5)的 δ -内酯是由 C_7-C_{20} 所构成。 1H NMR还显示(5)存在有另一个 γ -内酯环 [δ 3.61 和 3.52 (各1H, AB型 d, $J=8$ Hz)], 这可由 ν_{max} 1765 cm^{-1} 和 ^{13}C NMR δ 175.0 (s, 内酯), 75.9 (t) 的信息得到证实。化合物(5)的 1H 和 ^{13}C NMR示仅有一个叔甲基 (δ 1.03 和 δ 21.4) 存在, 由此可假定 γ -内酯环是在 C_6-C_{10} 或 C_8-C_{18} 之间。从 C_5-H 的化学位移值和裂分类型 [δ 2.84 (br. s)] 以及叔甲基碳的 ^{13}C NMR化学位移值 (δ 21.4), 化合物(5)与我们鉴定的狭叶香茶菜素¹⁾ (angustifolin) (9) 一样为一个新的螺甾贝壳杉烯型二萜化合物 (spirosecokaurene diterpenoid), 因此可推定这个 γ -内酯环位于 C_8-C_{18} 之间。

ludongnin (5) 存在有一个仲羟基: ν_{max} 3500 cm^{-1} ; 1H NMR δ 7.04 (1H, d, $J=3$ Hz, $-OH$, D_2O 交换消失), 4.53 (1H, m, D_2O 交换后呈 t, $J=4$ Hz); ^{13}C NMR δ 65.1 (d)。从 1H NMR的 δ 值以及与周围质子的偶合情况我们推定该羟基位于 $C-11\alpha$ 位。由于 $11\beta-H$ 与 $12\alpha-H$ 和 $12\beta-H$ 之间的双面夹角大致相等, J 值相同; 而 $11\beta-H$ 与 $9\beta-H$ 之间的双面夹角约为 90° , 没有偶合关系, 故 $11\beta-H$ 在重水交换后呈现为一个三重峰 ($J=4$ Hz); 而 $9\beta-H$ 仅与 $20-Ha$ (δ 5.40) 有W型远程偶合, 故表现为一个二重峰 (δ 2.34, $J=2$ Hz)。上述事实说明化合物(5)的C环只可能为船式构型。这由 $14\alpha-H$ (δ 3.69, $J=12$ Hz) 受到了 $11\alpha-OH$ 的去屏蔽效应而具有异常低的化

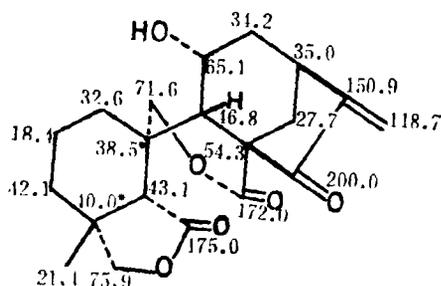


图1 ludongnin (5) 在 C_5D_5N 中的 ^{13}C NMR数据 (δ /ppm)

各个碳的指定根据宽带去偶, 偏共振去偶以及和化合物(9)相比较而加以确定, 22.63 MHz下测定

* 可能互换

1) 孙汉董等, 药学报, 待发表。

学位移得到了支持。因此ludongnin可以用结构(5)式表示。

(5)用常法得到乙酰化物(6) mp 230—232°C, 11 β -H (δ 4.53) 向低场位移至 δ 5.48 (t, J = 4Hz); 而14 α -H (δ 3.69) 则高场位移至 δ 3.00 (d, J = 12Hz)。

(5)用Beckmann混合物氧化得到氧化产物(7), mp 165—167°C, 14 α -H 高场位移至 δ 2.69 (d, J = 12Hz), 9 β -H (δ 2.34) 则低场位移至 δ 3.44 (s)。(5)用PtO₂作催化剂催化氢化得到二氢化物(8), mp 302—304°C, ¹H NMR 中呈现 17-CH₃ [δ 1.13 (d, J = 7Hz)] 的信号, 13 α -H 则由 δ 3.14 高场位移至 δ 2.48。由以上事实进一步证实了ludonenin的结构应以(5)式表示。

实 验 部 分

熔点用 kofler 显微测熔仪测定, 未经校正。岛津 IR-450 型分光光度计测定红外光谱; UV-210A 型仪测定紫外光谱; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 用 Bruker WH-90 型波谱仪测定, TMS 内标; MS 用 Finnigan-4510 型质谱仪测定。

1350 克卢氏县产冬凌草干叶于索氏抽提器中用乙醚提取, 回收乙醚得总抽出物 75 克。甲醇溶解后用活性炭脱色处理。甲醇液浓缩后室温放置得 4.2 克三萜类化合物, 母液浓缩至小体积, 室温放置得鳞片状结晶 7.45 克 (5)。除去结晶母液经硅胶柱层析, 用氯仿和不同比例的氯仿-丙酮混合溶剂洗脱, 于氯仿和 8:2 的氯仿-丙酮洗脱部份又得纯的化合物 (5) 1.1 克。因此 ludongnin (5) 得率约为 0.63% (按生药计)。

1. 卢氏冬凌草素 (5) 无色鳞片状结晶 (氯仿-丙酮中结晶), mp 265—267°C, [α]_D²⁵ -94.1 (C = 0.68, 吡啶) UV λ_{max} (95% EtOH), 231 nm (ϵ 7135). IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3500, 1765, 1739, 1693, 1643. ¹H NMR (C₅D₅N): 7.04 (1H, d, J = 3Hz, 11-OH, D₂O 交换消失), 6.16 和 5.50 (各 1H, s, 17-H₂), 5.40 (1H, AB 型 dd, J = 2, 12Hz, 20-Ha), 5.25 (1H, AB 型 d, J = 12Hz, 20-Hb), 4.53 (1H, m, D₂O 交换后呈 t, J = 4Hz, 11 β -H), 3.69 (1H, d, J = 12Hz, 14 α -H), 3.61 和 3.52 (各 1H, AB 型 d, J = 8Hz, 19-H₂), 3.14 (1H, dd, J = 5, 9Hz, 13 α -H), 2.84 (1H, br. s, 5 β -H), 2.34 (1H, d, J = 2Hz, 9 β -H), 1.03 (3H, s, 18-CH₃). MS (EI) m/z: 360 (M⁺), 342 (M⁺-H₂O), 332 (M⁺-CO), 314 (M⁺-H₂O-CO), 299 (314-CH₃), 289 (M⁺-H₂O-2 \times CO), 270 (289-CO-H⁺), 256, 233, 222, 211, 201, 105, 99, 91, 79. ¹³C NMR 见图 1。元素分析: C₂₀H₂₄O₆, 计算值 (%), C 66.65, H 6.71; 分析值 (%) C 66.32, H 6.84。

2. 乙酰化物 (6) 50 毫克 (5) 用 1:1 醋酐-吡啶乙酰化, 常法处理, 得残留物 52.4 毫克, 制备薄层层析纯化得 (6) 41.5 毫克, 醋酸乙酯中得无色针晶, mp 230—232°C. IR ν_{max}^{KBr} : 1775, 1750, 1740, 1710, 1635, 1225 cm⁻¹. ¹H NMR (C₅D₅N): 6.17 和 5.52 (各 1H, s, 17-H), 5.48 (1H, t, J = 4Hz, 11 β -H), 5.46 和 4.71 (1H, AB 型 d, J = 12Hz, 20-H₂) 3.61 和 3.57 (各 1H, AB 型 d, J = 8 Hz, 19-H₂), 3.10 (1H, dd, J = 5.9Hz, 13 α -H), 3.00 (1H, d, J = 12Hz, 14 α -H), 2.80 (1H, br. s, 5 β -H), 2.38 (1H, br. s, 9 β -H), 2.16 (3H, s,

—OAc), 1.04 (3H, s, 18—CH₃)。MS (EI, 15ev) m/z : 402 (M⁺), 384 (M⁺—H₂O), 376, 360 (M⁺—ketene), 342 (M⁺—HOAc), 332 (360—CO), 324 (342—H₂O), 314 (360—H₂O—CO), 304, 296, 287, 280, 268, 222, 176。

3. 氧化物 (7) 50毫克 (5) 溶于10毫升丙酮溶液中, 搅拌下滴加 Beckmann 混合物 3 滴, 反应约15分钟, TLC 示已反应完全, 加甲醇除去过量之贝克曼混合物, 常法处理得白色残余物47毫克, 氯仿中得白色片状结晶, mp 165—167°C。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 1770, 1710 (特强), 1640 cm^{-1} 。¹H NMR (C₅D₆N) δ : 6.14和5.60 (各1H, s, 17—H₂), 4.70和4.46 (各1H, AB型 d, J=12Hz, 20—H₂), 4.22和3.76 (各1H, AB型 d, J=9.3Hz, 19—H₂), 3.44 (1H, s, 9 β —H), 3.26 (1H, m, 13 α —H), 2.84 (1H, s, 5 β —H), 2.69 (1H, d, J=12Hz, 14 α —H), 1.05 (3H, s, 18—CH₃), MS (EI, 20ev) m/z : 358 (M⁺), 340 (M⁺—H₂O), 330 (M⁺—CO), 325 (340—CH₃) 312 (340—CO), 304, 298, 284, 280, 269, 256, 241, 225, 213, 192, 176, 166, 151, 134, 123, 109, 99, 93, 81。

4. 二氢化物 (8) 100毫克 (5), 溶于10毫升 MeOH 中, 加入约10毫克10%的 Pd-C, 室温搅拌下催化氢化, 反应约1个半小时, TLC 示已氢化完全。过滤, 回收至小体积即有结晶析出。经 MeOH 重结晶得91.2毫克无色针状结晶, mp 302—304°C。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3450, 1750, 1740, 1718 cm^{-1} 。¹H NMR (C₅D₆N) δ : 6.89 (1H, d, J=4Hz, 11—OH), 5.45和5.13 (各1H, AB型 d, J=12Hz, 20—H₂), 4.45 (1H, m, D₂O 交换后呈 t, J=4Hz, 11 β —H), 3.77 (1H, d, J=12Hz, 14 α —H), 3.64和3.51 (各1H, AB型 d, J=8Hz, 19—H₂), 2.80 (1H, br. s, 5 β —H), 2.48 (1H, m, 13 α —H), 1.13 (3H, d, J=7Hz, 17—CH₃), 1.06 (3H, s, 18—CH₃)。MS (EI, 20ev) m/z : 362 (M⁺), 344 (M⁺—H₂O), 334 (M⁺—CO), 326 (344—H₂O), 316 (344—CO), 305 (334—CO—H⁺), 298 (316—H₂O), 291, 272, 259, 233, 199, 183, 167, 159, 150, 133, 123, 107, 99, 93, 83。

致谢: 本植物标本由昆明植物研究所李锡文先生鉴定, 各项光谱数据由昆明植物所物理分析仪器组测定, 在此谨此谢意。

参 考 文 献

- [1] 河南省医学科学研究所药理研究组, 1975: 冬凌草抗肿瘤及其药理作用的研究, 河南医学院学报, (2), 9。
- [2] 河南省冬凌草研究协作组, 1974: 冬凌草抗肿瘤及其他药理作用研究, 肿瘤防治研究, (2): 86。
- [3] 孙汉董, 林中文, 秦崇秋, 晁金华, 赵清治, 1981: 抗癌植物冬凌草化学成分的研究, 云南植物研究, 3 (1), 95—100。
- [4] Sun Han-dong, Chao Jin-hua, Lin Zhong-wen, T. Marunaka, Y. Minami and T. Fujita, 1982: The structure of Rubescensin C, A new minor diterpenoid isolated from *Rabdosia rubescens*, Chem. Pharm. Bull. 30(1): 341—343。
- [5] Sun, H., Z. Lin, Y. Minami, T. Marunaka, T. Fujita and Y. Takeda, 1982: Structures of New Diterpenoids isolated from *Rabdosia* plants, *R. phyllostachys*, *R. rubescens* and *R. sculponcata*, in China, 25 th symposium on the chemistry of natural products symposium papers (Tokyo, Japan),

P. 266—273.

- [6] 河南省医学科学研究所药理药化组, 河南医学院化学教研组, 云南植物研究所植化室, 郑州化学制药厂制剂室, 1978; 一种新的抗肿瘤物质——冬凌草素, 科学通报, (1), 53—56.
- [7] 张翠沐, 陈正玉, 晁金华, 赵清治, 孙汉董, 林中文, 1981; 冬凌草又一抗肿瘤有效成份—冬凌草乙素, 科学通报, (22), 1051—1054.
- [8] E., Fujita, Y. Nagao and M. Noda, 1976, Diterpenoids of *Isodon* and *Teucrium* Plants, *Heterocycles*, 5, 793—838.

THE STRUCTURE OF LUDONGNIN

Zheng Xinrong, Gao Zenyi

(Henan Institute of Biology, Academy of Henan Province)

Sun Handong and Lin Zhongwen

(Kunming Institute of Botany, Academia sinica)

Abstract

Ludongnin, a new spirosecokaurene diterpenoid was isolated from *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara collected in Lushi, Henan. The structure was established from its spectral and chemical evidence. It is the first instance of an entkaurene type diterpenoid possessing a γ -lactonic ring in between C_6 — C_{10} , while all the other known type diterpenoids isolated from *Rabdosia* species are not γ -lactonic ring in between C_6 — C_{10} .