

光敏氧化制备抗癌及保肝的二萜衍生物*

冯彦, 赵一纯, 陈其润, 赵庆[△]

(云南中医学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 目的 以二萜 coronarin E 进行衍生化以制备具有生物活性的衍生物。方法 采用 2 种方法, 对 coronarin E 进行光敏氧化, 制备二萜衍生物。结果 coronarin E 的光敏氧化共得到 2 个二萜衍生物, 其中一个氧化产物具有显著的抗肿瘤活性, 另一氧化产物具有显著的保肝活性。结论 以二萜成分为原料, 制备具有生物活性的成分是可行的。

关键词: 二萜; 光敏氧化; 生物活性; 抗癌; 保肝

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)03-0013-03

本项目组在前期工作中从姜科植物中发现了大量具有较强抗肿瘤活性的二萜成分^[1-13]; 姜科植物滇姜花(*Hedychium yunnanense* Gangep.) 中富含二萜成分, 而 coronarin E 是滇姜花中含量较高的呋喃型二萜成分。研究表明, 姜科植物中的部分二萜成分具有抗肿瘤、抗炎等活性。光敏氧化反应是制备氧化衍生物的重要手段^[9-10, 14], 它是利用光敏剂(亚甲基蓝、四苯基卟啉、孟加拉玫瑰红等)在光照的条件下, 对氧分子进行光敏化作用, 从而生成高活性的单线态氧, 单线态氧与有机物反应, 得到一系列氧化产物。光敏氧化反应具有高选择性、高产率及绿色经济的特点。

本项目组曾采用琼斯氧化法制备了具有较强抗肿瘤活性的二萜成分 **1**^[11]。但琼斯氧化法制备化合物 **1** 的产率不高, 且产物的分离难度较大。因此本文采用光敏氧化法代替琼斯氧化法: 以滇姜花中

高含量且易得的化学成分 coronarin E 为原料, 在低温(-45℃)下进行光敏氧化, 制备了化合物 **1**(见图 1)。预试表明, 上述光敏氧化反应如果在常温下进行, 则产物十分复杂。我们对常温下的光敏氧化进行了系统的预试验, 结果总结如下: 如果在中性溶剂中进行反应, 则产物均十分复杂; 而在吡啶溶剂中进行光敏氧化, 产物通常只有 2 个。因此, 我们在常温下在吡啶溶剂中进行光敏氧化反应, 制备了 2 个二萜衍生物(化合物 **1-2**, 见图 2)。

据本项目组的前期工作^[11], 化合物 **1** 对人白血病细胞株 HL-60 和肝癌细胞株 SMMC-7721 均显示出较强的细胞毒活性, IC₅₀ 分别为 3.15 μmol/L 与 9.57 μmol/L; 对肺癌细胞株 A-549 显示出中等抑制活性, IC₅₀ 为 15.09 μmol/L。化合物 **2** 也是非常具有研究价值的二萜成分。据文献报道^[15], 化合物 **2** 对 D-氨基半乳糖诱导细胞毒性的小鼠肝细胞具有显

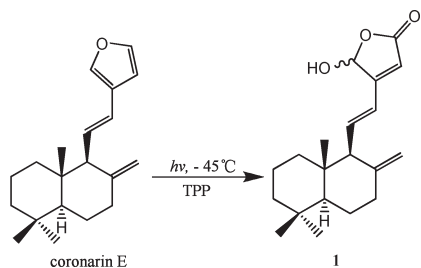


图 1 Coronarin E 在低温下的光敏氧化

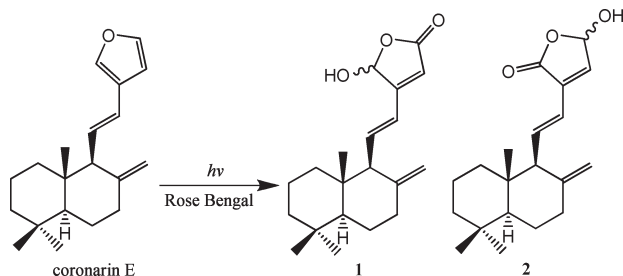


图 2 Coronarin E 在常温下的光敏氧化

* 基金项目: 国家自然科学基金(81460533)

收稿日期: 2015-04-23

作者简介: 冯彦(1990-), 女, 云南昆明人, 在读硕士研究生, 从事天然产物化学研究。

[△]通信作者: 赵庆, E-mail: qingzhaokm2008@126.com

著保肝作用,其保肝活性甚至高于保肝药物水飞蓟宾。

1 实验仪器与材料

核磁共振氢谱、碳谱由 Bruker AM-400 型核磁共振仪测定。柱色谱用的硅胶、薄层色谱用的硅胶 G 板均为青岛海洋化工厂生产。薄层色谱显色的常规方法为:喷洒 10% 硫酸-乙醇溶液,在 105℃ 下烘烤至显色明显。光敏剂四苯基卟啉与孟加拉玫瑰红均从阿拉丁试剂公司购买得到。有机溶剂均为分析纯。

Coronarins E 是从姜科植物滇姜花(*Hedychium yunnanense* Gangep.)中分离得到的。

2 光敏氧化反应

2.1 低温下的光敏氧化反应

称取 coronarins E 50mg,溶于 20mL 二氯乙烷中,加入 N,N-二异丙基乙胺 0.4mL,加入 0.2mg 四苯基卟啉,通入氧气后搅拌 5min,置于低温装置(-45℃),在 LED 灯照射下反应 4 h。经薄层色谱检测,大部分 coronarins E 已基本反应完全。减压浓缩至干,经 300~400 目硅胶常压柱层析分离,洗脱系统为石油醚:乙酸乙酯(4:1),得化合物 **1**(45.3mg,产率 81.4%)。

2.2 常温下的光敏氧化反应

称取 coronarins E 106.7mg,溶于 10mL 吡啶中,加入 0.4mg 孟加拉玫瑰红,通入氧气后搅拌 5min,在日光照射下反应 3 h。减压浓缩至干,经 300~400 目硅胶常压柱层析分离,洗脱系统为石油醚:乙酸乙酯(4:1),得化合物 **1**(33.4mg,产率 28.1%)和化合物 **2**(48.9mg,产率 41.2%)。

3 产物的波谱数据及结构解析要点

化合物 **1** 的 ^1H NMR、 ^{13}C -DEPT NMR 与本项目组此前经琼斯氧化制备的产物^[11]相一致,且经薄层色谱检验, R_f 值一致,因此为同一成分。

化合物 **1**: ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 0.83 (3H, s, H-20); 0.87 (3H, s, H-19); 0.89 (3H, s, H-18); 2.44 (1H, d, J=9.5Hz, H-9); 4.38 (1H, br s, H-17b); 4.47 (1H, br s, H-17a); 6.26 (1H, s, H-16); 6.31 (1H, d, J=16.0Hz, H-12); 6.57 (1H, dd, J=16.0, 10.0Hz, H-11); 6.78 (1H, br s, H-14). ^{13}C NMR (100Hz, CDCl_3) δ : 40.8 (t, C-1); 19.0 (t, C-2); 42.1 (t, C-3); 33.5 (s, C-4); 54.5 (d, C-5); 23.2 (t, C-6); 36.5 (t, C-7); 148.6/148.9 (s, C-8); 62.1 (d, C-9);

39.5 (s, C-10); 144.0 (d, C-11); 122.7 (d, C-12); 161.3 (s, C-13); 115.4 (d, C-14); 171.5 (s, C-15); 97.7 (d, C-16); 108.5 (t, C-17); 3.5 (q, C-18); 21.9 (q, C-19); 15.1 (q, C-20).

化合物 **2** 为化合物 **1** 的差向异构体,二者的 NMR 数据较为相似,二者结构的差别仅仅在于:化合物 **1** 的羰基在 C-15 位,羟基在 C-16 位;而化合物 **2** 的羰基在 C-16 位,羟基在 C-15 位。将 2 个化合物的 NMR 数据进行比较,即可对化合物 **2** 的 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 数据进行归属。

化合物 **2**: ESI(+) - MS: 317 [M+] $^+$. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 0.79 (3H, s, H-20); 0.82 (3H, s, H-19); 0.88 (3H, s, H-18); 2.39 (1H, d, J=9.5Hz, H-9); 4.69 (1H, br s, H-17b); 4.39 (1H, br s, H-17a); 6.90 (1H, s, H-15); 6.31 (1H, d, J=16.0Hz, H-12); 6.06 (1H, dd, J=16.0, 10.0Hz, H-11); 7.65 (1H, br s, H-14). ^{13}C NMR (100Hz, CDCl_3) δ : 40.8 (t, C-1); 19.1 (t, C-2); 42.2 (t, C-3); 33.6 (s, C-4); 54.6 (d, C-5); 23.3 (t, C-6); 36.7 (t, C-7); 149.2 (s, C-8); 62.2 (d, C-9); 39.4 (s, C-10); 139.6 (d, C-11); 132.5 (d, C-12); 123.5 (s, C-13); 140.8 (d, C-14); 96.3 (d, C-15); 170.1 (s, C-16); 108.5 (t, C-17); 33.6 (q, C-18); 21.9 (q, C-19); 15.1 (q, C-20).

4 结果与讨论

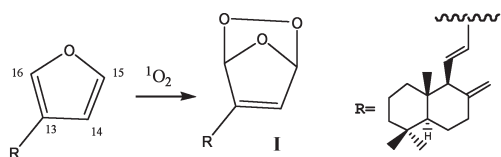
二萜 coronarins E 在 -45℃ 下经光敏氧化,可得到具有较强抗肿瘤活性的化合物 **1**。与琼斯氧化法相比,光敏氧化法有如下优点:(1)产率大大提高。(2)不需要采用毒性较高的化学试剂,清洁环保;而在琼斯氧化中需要使用毒性较大的试剂三氧化铬。(3)后处理和分离很容易。

我们注意到,在低温光敏氧化时得到的主产物只有化合物 **1**,而常温下在吡啶中进行的光敏氧化,主产物有 2 个(化合物 **1** 和 **2**)。这可以从反应机理进行解释。呋喃二萜首先与单线态氧反应生成过氧中间体 **I**(见 Scheme 1)。有机碱(在 Scheme 1 和 2 中用 **B** 表示)夺取过氧中间体 C-15 或 C-16 位的氢,生成阴离子 **1a** 或 **2a**。**1a** 或 **2a** 的过氧键断裂则生成 **1b** 或 **2b**,**1b** 或 **2b** 获取氢离子后得化合物 **1** 或 **2**。与如果按 Scheme 2 反应则得到化合物 **1**;如果按 Scheme 3 反应则得到化合物 **2**。

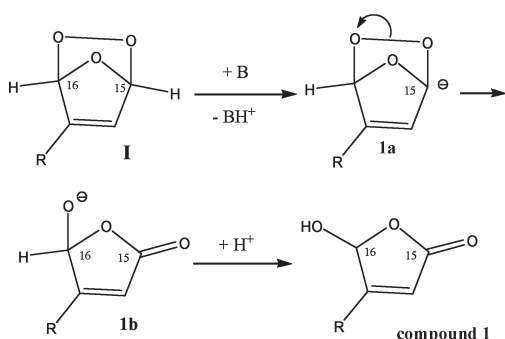
因为在低温下的光敏反应采用的有机碱 N,N-二异丙基乙胺是一个高位阻碱,在反应过程中,如

果它进攻 C-15 位则位阻较小;而进攻 C-16 位时由于受到邻位的大基团 R 基的影响,空间位阻很大,因此反应难以按 **Scheme 3** 进行。此时,反应主要是按 **Scheme 2** 进行,得到化合物 **1**。

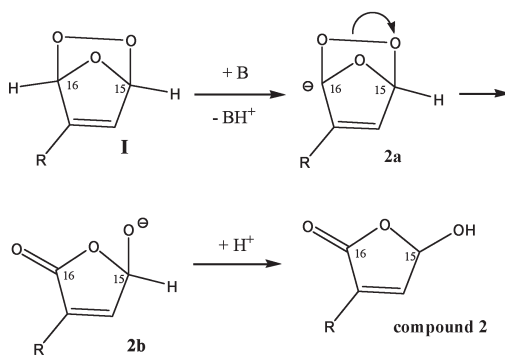
在常温下的光敏反应是采用的有机碱吡啶是一个低位阻碱,它在进攻 C-16 位时受到邻位 R 基的影响较小。此时,反应既可按 **Scheme 2** 进行,也可按 **Scheme 3** 进行,最终就得到两个产物 **1** 和 **2**。



Scheme 1



Scheme 2



Scheme 3

本项研究说明,以呋喃二萜成分为原料,经光敏氧化制备具有研究价值的二萜衍生物是可行的。

参考文献:

- [1] 赵庆,郝小江,陈耀祖,等. 圆瓣姜花的二萜化合物及其细胞毒活性研究[J]. 药学报,1995,30(2):119.
- [2] Zhao Q, Qing C, Hao X J, et al. Cytotoxicity of labdane-type diterpenoids from *Hedychium forrestii* [J]. *Chew Pharm Bull*, 2008, 56(2), 210-212.
- [3] 赵庆,贺小琼,郝小江,等. 滇姜花二萜成分的抗肿瘤活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22(3):395-397.
- [4] 赵声定,马莎,赵庆,等. 三个二萜成分的抗肿瘤活性研究 [J]. *云南中医学院院报*, 2010, 33(3):33-34, 50.
- [5] 赵庆,郝小江,邹澄,等. 毛姜花的降二萜成分研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(1):10-12.
- [6] 赵庆,郝小江,邹澄,等. 滇姜花中的两个新成分 [J]. *天然产物研究与开发*, 2008, 20(5):761-764.
- [7] 高杰杰,郝小江,何红平,等. 圆瓣姜花的化学成分研究 [J]. *云南中医学院院报*, 2013, 36(3):28-30.
- [8] Zhao Q, Hong X, Wang Y S, et al. Two new diterpenoids from *Hedychium forrestii* [J]. *Chinises Chemical Letter*, 2003, 14(11):1141-1143.
- [9] 赵庆,郝小江,陈耀祖,等. 滇姜花抗肿瘤活性二萜及其光敏氧化反应的研究 [J]. *植物学报*, 1999, 41(5):28-30.
- [10] Zhao Q, Hao X J, Chen Y Z, et al. Studies on photosensitized oxidation of diterpenoids from *Hedychium* genus [J]. *Chinese Chemical Letters*, 1996, 7(1):25-28.
- [11] 赵庆,邹澄,余琴,等. 毛姜花中的细胞毒活性二萜成分 [J]. *高等学校化学学报*, 2012, 33(6):1220-1225.
- [12] 赵庆,叶晓雯,陈凌云,等. 圆瓣姜花中的单萜类成分[J]. *云南中医学院院报*, 2004, 27(1):35-36.
- [13] 赵庆,郝小江,陈耀祖,等. 滇姜花新二萜成分的研究[J]. *高等学校化学学报*, 1995, 16(1):64-68.
- [14] 赵映梅,张滢,邹澄,等. α 桉醇光敏氧化及抗肿瘤活性研究[J]. *云南中医学院院报*, 2015, 38(2):59-61.
- [15] Seikou N M, Yoshie O Z, Kiyofumi N M, et al. Chemical structures and hepatoprotective effects of constituents from flowers of *Hedychium coronarium* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2008, 56(12):1704-1709.

(编辑:岳胜难)

Anticancer and Hepatoprotective Diterpene Derivatives from Photosensitized Oxidation

FENG Yan, ZHAO Yichun, CHEN Qirun, ZHAO Qing[△]

(Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: **Objective** Coronarin E, a diterpenoid was utilized to synthesis bioactive derivatives. **Methods** Coronarin E was oxidized with the two methods of photosensitized oxidation, two derivatives were obtained. **Results** Two diterpene derivatives with cytotoxic or hepatoprotective activities were obtained. **Conclusion** It is feasible to obtain the derivatives with bioactivities.

KEY WORDS: diterpene; photosensitized oxidation; bioactivity; anticancer; hepatoprotective