

二萜成分 7-hydroxyl-hedychenone 的酰化、烷基化及抗肿瘤活性研究*

赵映梅¹, 张 滢², 邹 澄², 赵 庆^{3△}

(1. 昆明市呈贡区人民医院, 云南 昆明 650500; 2. 昆明医科大学, 云南 昆明 650500;

3. 云南中医学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 目的 以二萜成分 7-hydroxyl-hedychenone 制备具有体外抗肿瘤活性的衍生物。方法 对 7-hydroxyl-hedychenone 进行酰化及烷基化, 制备 4 个衍生物, 并对其中 3 个进行体外抗肿瘤活性测试。结果 共制备 4 个二萜衍生物, 其中 1 个衍生物对 2 种肿瘤细胞具有体外抗肿瘤活性。结论 以二萜为原料进行酰化和烷基化, 制备具有抗肿瘤活性成分是可行的。

关键词: 二萜; 酰化; 烷基化; 抗肿瘤活性

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)02-0022-03

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.02.006

以天然产物为原料, 经过各种衍生化反应制备天然产物衍生物, 以期发现新的生物活性成分或先导化合物, 是药物的研究与开发的一个重要途径。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^[1-15]。在本文中, 笔者采用姜科植物滇姜花 (*Hedychium yunnanense* Gangev.) 与圆瓣姜花 (*Hedychium forrestii* Diels.) 中含量丰富的二萜成分 7-hydroxyl-hedychenone 作为原料, 经过酰化反应与烷基化反应制备二萜衍生物, 以寻找新的抗肿瘤活性二萜成分。本文中, 共制备了 4 个二萜衍生物 (化合物 1~4), 4 个成分均为新化合物, 其中化合物 1 对 2 种肿瘤细胞具有体外抗肿瘤活性。

1 实验仪器与材料

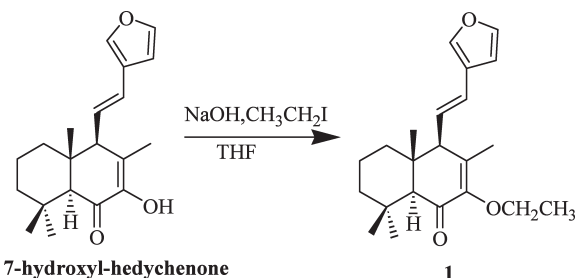
核磁共振氢谱、碳谱由 Bruker AM-400 型核磁共振仪测定。柱色谱用的硅胶为青岛海洋化工厂生产。薄层色谱用青岛海洋化工厂生产的硅胶 G 板, 薄层显色的常规方法为: 喷洒 10% 硫酸-乙醇溶液, 在 105℃ 下烘烤至显色明显。

二萜成分 7-hydroxyl-hedychenone 是从姜科植物圆瓣姜花 (*Hedychium forrestii* Diels.) 中分离得到。

2 二萜 7-hydroxyl-hedychenone 的酰化与烷基化反应

2.1 7-hydroxyl-hedychenone 的乙基化反应

称取 7-hydroxyl-hedychenone 300mg, 加入 3mL 四氢呋喃, 0.5g 氢氧化钠, 2mL 碘乙烷, 置水浴于 40℃ 稍加热, 静置反应 1h, TLC 检测原料消耗完全。用少量 200~300 目硅胶过滤, 乙酸乙酯洗涤。洗脱液浓缩, 经 200~300 目硅胶柱色谱分离, 石油醚: 乙酸乙酯 (30:1~20:1) 洗脱。得目标产物 **1** 132mg。



2.2 7-hydroxyl-hedychenone 的甲基化反应

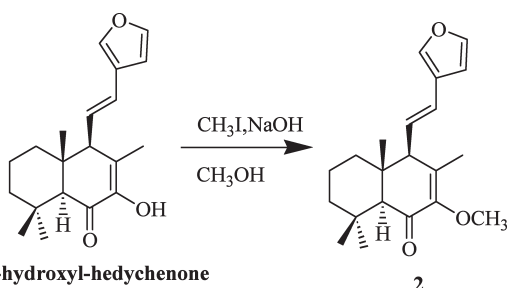
称取 7-hydroxyl-hedychenone 216mg, 加入 2mL 四氢呋喃, 0.5g 氢氧化钠, 1mL 碘甲烷, 置水浴于 40℃ 稍加热, 静置反应 1h, TLC 检测至原料反应完全。产物经 200~300 目硅胶柱色谱分离, 乙酸乙酯洗脱。得目标产物 **2** 135mg。

* 基金项目: 国家自然科学基金 (81460533, 81060262)

收稿日期: 2016-02-22

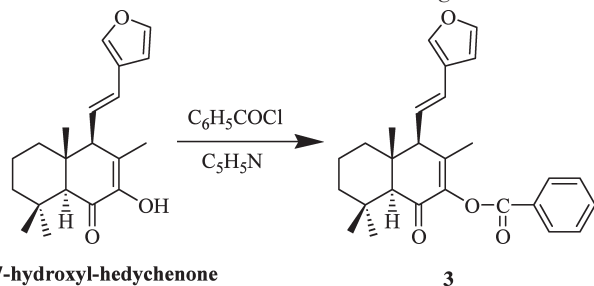
作者简介: 赵映梅 (1975-), 女, 云南曲靖人, 中药师, 从事药品质量管理和调剂工作及植物化学成分研究。

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



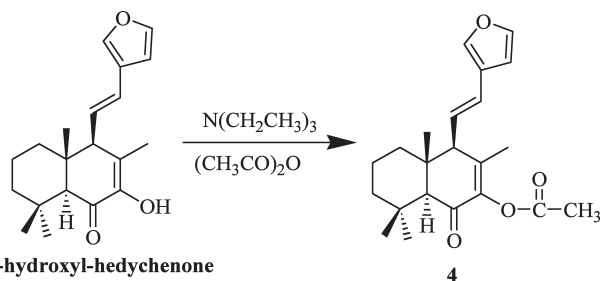
2.3 7-hydroxyl-hedychenone 的苯甲酰化反应

称取 7-hydroxyl-hedychenone 105mg, 加入吡啶 1mL, 苯甲酰氯 1mL, 静置 2h。TLC 检测至原料消耗完毕, 将反应液倾入装有 100mL 水的烧杯中。稍搅拌, 静置 1h 待苯甲酰氯水解完全。用 100mL 乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯层用无水 Na_2SO_4 干燥 1 d。浓缩回收, 经 200~300 目氧化铝柱色谱分离, 石油醚: 乙酸乙酯 (20:1) 洗脱, 得到目标产物 **3** 56mg。



2.4 7-hydroxyl-hedychenone 的乙酰化

称取 7-hydroxyl-hedychenone 100mg, 加入三乙胺 1mL, 乙酸酐 1mL, 静置并于 50℃ 水浴加热 1h。用 TLC 检测原料消耗完毕, 停止加热。将反应液倾入约 100mL 水中, 静置 0.5h, 稍搅拌待乙酸酐水解完毕。用 100mL 乙酸乙酯萃取。乙酸乙酯层加入无水 Na_2SO_4 干燥 1 d。浓缩回收后, 经 200~300 目硅胶柱色谱分离, 石油醚: 乙酸乙酯 (15:1) 洗脱得目标产物 **4** 69mg。



3 产物的波谱数据

化合物 **1**: 无色晶体, $\text{ESI}(+)$ -MS: 343 $[\text{M}+1]^+$. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 8.05(s, H-18); 1.15(s, H-19); 1.18(s, H-20); 1.71(s, H-17); 2.22(s, H-5); 2.26(s, H-2'), 3.07(d, $J=10.1$ Hz, H-9), 5.73 (dd, $J=10.1, 15.6$ Hz, H-11), 6.33 (d, $J=15.6$ Hz, H-12), 6.52 (br.s, H-14), 7.38 (br.s, H-15), 7.43 (br.s, H-16). ^{13}C NMR (100Hz,

1'), 5.72(dd, $J=10.1, 15.6$ Hz, H-11), 6.33(d, $J=15.6$ Hz, H-12), 6.51(br.s, H-14), 7.36(br.s, H-15), 7.41 (br.s, H-16). ^{13}C NMR (100Hz, CDCl_3) δ : 40.2(t, C-1); 18.0(t, C-2); 43.3(t, C-3); 32.7(s, C-4); 60.2(d, C-5); 195.5(s, C-6); 140.2(s, C-7); 148.4(s, C-8); 63.4(d, C-9); 42.3(s, C-10); 124.2(d, C-11); 126.4(d, C-12); 123.7 (s, C-13); 107.4 (d, C-14); 140.4 (d, C-15); 143.6(d, C-16); 15.6(q, C-17); 33.4(q, C-18); 21.6 (q, C-19); 15.8, (q, C-20); 67.5 (t, C-1'); 15.8(q C-2').

化合物 **2**: 无色晶体, $\text{ESI}(+)$ -MS: 329 $[\text{M}+1]^+$. 80.96(s, H-18); 1.14(s, H-19); 1.19(s, H-20); 1.76 (s, H-17), 2.09(s, H-5), 2.96(d, $J=10.0$ Hz, H-9), 3.63(s, H-1'), 5.73(dd, $J=10.0, 15.5$ Hz, H-11), 6.33 (d, $J=15.5$ Hz, H-12), 6.51 (br.s, H-14), 7.36(br.s, H-15), 7.41 (br.s, H-16). ^{13}C NMR (100Hz, CDCl_3) δ : 40.1(t, C-1); 18.0(t, C-2); 43.2(t, C-3); 32.7(s, C-4); 60.1(d, C-5); 195.3(s, C-6); 140.2(s, C-7); 149.4(s, C-8); 63.4(d, C-9); 42.3(s, C-10); 124.3(d, C-11); 126.2(d, C-12); 123.7(s, C-13); 107.4(d, C-14); 140.3(d, C-15); 143.6(d, C-16); 15.6(q, C-17); 33.4(q, C-18); 21.6(q, C-19); 15.6(q, C-20); 59.7(q, C-1').

化合物 **3**: 无色晶体, $\text{ESI}(+)$ -MS: 419 $[\text{M}+1]^+$. 81.17(s, H-18 and 19), 1.20(s, H-20), 1.77(s, H-17), 5.81(dd, $J=10.1, 15.0$ Hz, H-11), 6.41(d, $J=15.6$ Hz, H-12), 6.53(br.s, H-14), 7.39(br.s, H-15), 7.44 (br.s, H-16), 7.46(m, H-3' and 5'), 7.60(m, H-4'), 8.06 (m, H-2' and 6'). ^{13}C NMR (100Hz, CDCl_3) δ : 40.3(t, C-1); 18.3(t, C-2); 43.5(t, C-3); 33.1(s, C-4); 60.6(d, C-5); 192.1(s, C-6); 129.4(s, C-7); 142.8(s, C-8); 63.5(d, C-9); 43.1(s, C-10); 125.4(d, C-11); 125.7(d, C-12); 123.9(s, C-13); 107.7(d, C-14); 140.7(d, C-15); 144.0(d, C-16); 16.1(q, C-17); 33.7(q, C-18); 22.0(q, C-19); 16.3(q, C-20); 164.8(C-1'); 130.5(C-2'); 133.7(C-3'); 128.7(C-4'); 130.5(C-5').

化合物 **4**: 无色晶体, $\text{ESI}(+)$ -MS: 356 $[\text{M}+1]^+$. 81.05(s, H-18); 1.15(s, H-19); 1.18(s, H-20); 1.71(s, H-17), 2.22(s, H-5), 2.26(s, H-2'), 3.07(d, $J=10.1$ Hz, H-9), 5.73 (dd, $J=10.1, 15.6$ Hz, H-11), 6.33 (d, $J=15.6$ Hz, H-12), 6.52 (br.s, H-14), 7.38 (br.s, H-15), 7.43 (br.s, H-16). ^{13}C NMR (100Hz,

CDC1₃) δ :39.9(t,C-1);17.9(t,C-2);43.1(t,C-3);32.7(s,C-4);60.1(d,C-5);192.1(s,C-6);125.0(s,C-7);142.2(s,C-8);62.9(d,C-9);42.7(s,C-10);125.0(d,C-11);125.3(d,C-12);123.6(s,C-13);107.4(d,C-14);140.4(d,C-15);143.7(d,C-16);15.7(q,C-17);33.3(q,C-18);20.3(q,C-19);16.0(q,C-20);168.8(C-1');20.3(C-2').

4 化合物 1、3、4 的体外抗肿瘤活性测试

体外抗肿瘤活性测试在中国科学院昆明植物研究所药物筛选中心进行,采用 MTT 法^[10]。测试结果表明,化合物 1 对乳腺癌细胞株 MCF-7、结肠癌细胞株 SW480 均显示了体外抗肿瘤活性。化合物 3、4 对 5 个细胞株未显示抗肿瘤活性。见表 1。

表 1 部分化合物对不同肿瘤细胞株的半数生长抑制浓度 IC₅₀(μ M)

化合物 编号	白血病 HL-60	肝癌 SMMC-7721	肺癌 A-549	乳腺癌 MCF-7	结肠癌 SW480
1	>40	>40	>40	28.20	18.51
3	>40	>40	>40	>40	>40
4	>40	>40	>40	>40	>40
顺铂	1.05	6.76	6.01	15.38	16.31

5 结果与讨论

将天然产物进行衍生化制备拟天然产物,以寻找新的生物活性成分或先导化合物,是药物的研究与开发的一个重要途径。采用姜科二萜 7-hydroxyl-hedychenone 经酰化反应和烷基化反应制备了 4 个衍生物 1~4, 4 个成分均为新化合物。体外抗肿瘤活性测试表明,乙基化产物 1 具有抗肿瘤活性,值得进一步研究。本项研究表明,以二萜成分为原料制备抗肿瘤活性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):119-122.

- [2] Zhao Q, Qing C, Hao XJ, 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]. 云南中医学院学报,2010,33(3):33-34.
- [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 YS, et al. Two new diterpenoids from *Hedychium forrestii* [J]. *Chinise Chemical Letters*. 2003,14(11):1141-1143.
- [9] 赵庆,郝小江,陈耀祖,邹澄,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),528-530.
- [10] Zhao Q, Hao X, Chen Y, 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]. 云南中医学院学报,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]. 云南中医学院学报,2015,38(2):18-20.
- [15] 冯彦,赵一纯,陈其润,等. 光敏氧化制备抗癌及保肝的二萜衍生物[J]. 云南中医学院学报,2015,38(3):13-15.
- [16] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. *J Immunol Methods*, 1983,65(1-2):55-63.

(编辑:徐建平)

Acylation and Alkylation of a Diterpene, 7-Hydroxyl-Hedychenone and Antitumor Researches of the Products

ZHAO Yingmei¹, ZHANG Ying², ZOU Cheng², ZHAO Qing³

(1. Chenggong District Hospital, Kunming 650500, China; 2. Kunming Medical University, Kunming 650500, China;

3. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective A diterpeneoid, 7-hydroxyl-hedychenone was utilized to synthesis bioactive derivatives. **Methods** 7-hydroxyl-hedychenone was acylated or alkylated, as a result, four derivatives were obtained, three of which were subjected to in vitro antitumor bioassays. **Results** Four diterpene derivatives were obtained, one derivative showed antitumor activity against two cancer cell lines. **Conclusion** It is feasible to obtain derivatives with antitumor activity from natural diterpenoids.

KEY WORDS: diterpene; acylation; alkylation; antitumor activity