

## 4-取代氨基甲酰胺基-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素 衍生物的合成及其抗肿瘤活性

尹述凡 王志光 马维勇 董秀成<sup>1</sup> 王天都 陈秀华 张椿年

(上海医药工业研究院, 上海 200437)

**摘 要** 根据鬼臼毒素类化合物 C<sub>4</sub> 位氮取代衍生物构效原理, 设计并合成了 11 个 4-取代氨基或羟氨基甲酰胺基表鬼臼毒素类似物。从鬼臼毒素出发, 经溴代、水解、叠氮化、还原以及酰化等六步反应合成标题化合物。体外抗肿瘤活性试验表明这类化合物具有较为显著的生物活性, 多数化合物对 L1210 白血病肿瘤细胞与 KB 细胞生长抑制活性超过临床用药依托泊甙。

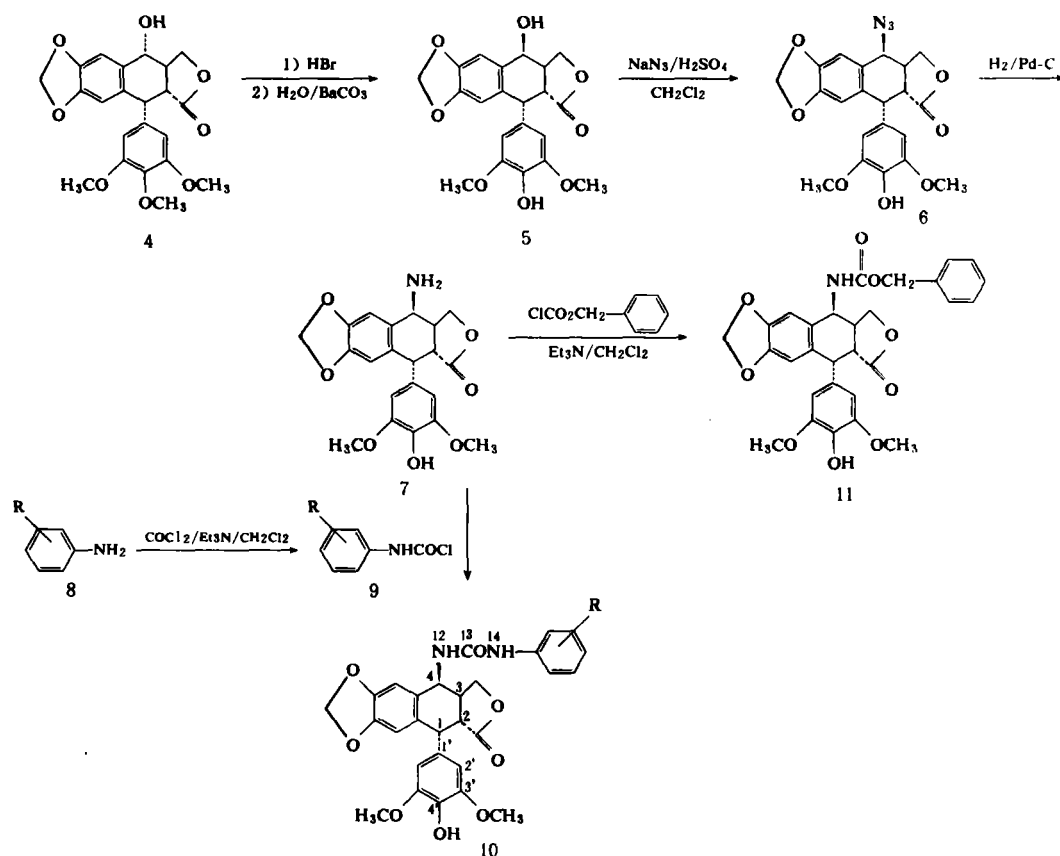
**关键词** 鬼臼毒素; 4-取代氨基甲酰胺基-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素; 抗肿瘤活性

鬼臼毒素(Podophyllotoxin)是一种从植物中分得的抗肿瘤活性成分。其结构改造所得的衍生物依托泊甙(Etoposide, VP-16-213)和替尼泊甙(Teniposide, VM-26)是这类化合物临床应用的代表药物。它们对小细胞肺癌、睾丸癌、急性白血病以及恶性淋巴瘤等均具有良好的疗效<sup>[1]</sup>。但也存在诸如抗瘤谱较窄、水溶性差以及较严重的骨髓抑制与胃肠道反应等缺点, 限制了其临床应用。因此, 近年来为寻找更为有效且毒性低的抗肿瘤新药, 对鬼臼毒素的结构改造及其构效关系的研究进行了大量的工作。结果表明鬼臼毒素母核 C<sub>4</sub> 位是最重要的可修饰活性位点之一<sup>[2]</sup>。其中根据生物电子等排原理将鬼臼毒素 C<sub>4</sub> 位上氧原子换成氮原子及其衍生物的工作, 取得较好成效。例如 4-取代苯甲酰胺基-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素类化合物, 显示很高的抗肿瘤活性<sup>[3]</sup>。我们曾对鬼臼毒素 C<sub>4</sub>-位氨基物及其亚胺化等衍生物的制备与抗肿瘤活性关系进行了广泛的研究<sup>[4]</sup>。结果揭示 C<sub>4</sub>-氨基物及其酰化产物确实具有较为显著的抗肿瘤活性。据此, 我们以 4-氨基-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(7)为中间体, 设计了 4-取代磺酰胺基、4-取代氨基乙二酰胺

基以及 O,O'-二烃代磷酰胺基等多种类型的鬼臼毒素 C<sub>4</sub>-氨基衍生物, 它们普遍具有较为显著的抗肿瘤活性, 不少化合物活性超过依托泊甙<sup>[5]</sup>。本文报道其中 4-取代氨基甲酰胺基-4-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素衍生物部分。

标题化合物的合成路线如 Scheme 1 所示。关键中间体(7)按文献方法制备<sup>[4]</sup>。其中鬼臼毒素(4)用已知方法转化为 4'-去甲基表鬼臼毒素(5)<sup>[6]</sup>。(5)与 HN<sub>3</sub> 在三氟化硼乙醚试剂存在下进行叠氮化反应制取化合物(6)。后者经催化氢化还原等步骤合成中间体(7)。该路线简捷, 立体专一性较强, 后处理亦较方便。曾用多种方法探索关键中间体(7)转化为标题化合物的过程。如先制备异氰酸酯试剂, 再与(7)作用的方法, 但反应复杂, 副产物太多, 分离纯化困难。采用活性酰化中间体 N', N'-碳酰二咪唑作催化剂, 反应速率仍太慢, 转化率较低。最后选择以光气直接与芳香胺(8)作用, 生成氯甲酰胺活性中间体(9), 不需分离, 直接与(7)反应得到化合物(10)。该反应迅速, 终点易判断, 后处理也较简便。按此法合成了 10 个标题化合物。其 90 MHz <sup>1</sup>H-NMR 谱表明, 这类化合物 H-4 处于 δ=5.0 ppm 左右, J<sub>3,4</sub>=4.0 Hz; H-2', 6' 谱线在 δ=

Scheme 1



6.20~6.30 ppm 范围内,而 H-8 谱线在  $\delta=6.52\sim 6.60$  ppm 范围内,提示反应过程中化合物 C<sub>2</sub>、C<sub>4</sub> 的构型未发生转变,仍符合活性





构型要求<sup>[2]</sup>。化合物 10<sub>a-f</sub> 的理化数据见表 1、表 2。

以依托泊甙为阳性对照物,对所合成的

Tab 1. Physical properties of compounds

Compd.	R	Formula	Yield, %	mp °C	Anal., %		[ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (DMF)
					Calcd	Found	
10a		C <sub>28</sub> H <sub>25</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>8</sub> · 2.5H <sub>2</sub> O	31	176-180 (MeOH)	C	57.83	-80.7 c0.43
					H	4.30	
					N	4.81	
10b		C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> · H <sub>2</sub> O	44.5	196-198 (MeOH)	C	55.54	-116.9 c0.51
					H	3.97	
					N	4.63	
10c		C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub>	16.8	212-214 (i-PrOH)	C	55.26	-269.5 c0.21
					H	3.95	
					N	9.21	
10d		C <sub>27</sub> H <sub>26</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub> · H <sub>2</sub> O	11.5	138-140 (MeOH)	C	60.34	-88.5 c2.26
					H	5.02	
					N	7.82	
10e		C <sub>26</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	11.5	102-104 (i-PrOH)	C	54.06	-29.6 c0.31
					H	3.71	
					N	4.50	
10f		C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>9</sub> · 1.5H <sub>2</sub> O	32.8	132-136 (i-PrOH)	C	60.52	-197.3 c0.40
					H	5.20	
					N	5.10	

Continued Tab 1.

Compd.	R	Formula	Yield, %	mp °C	Anal., %		[α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> (DMF)	
					Calcd	Found		
10g		C <sub>28</sub> H <sub>24</sub> N <sub>4</sub> O <sub>12</sub>	13.1	190-192 (i-PrOH)	C H N	55.26 3.95 9.21	55.46 3.72 8.94	-84.5 c0.40
10h		C <sub>30</sub> H <sub>31</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	35.0	170-192 (MeOH)	C H N	64.17 5.53 7.49	64.11 5.68 7.48	-164.2 c0.34
10i		C <sub>30</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>10</sub>	44.6	178-180 (MeOH)	C H N	62.25 5.53 7.49	61.95 5.28 4.68	-188.2 c0.32
10j		C <sub>32</sub> H <sub>35</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	27.0	218-220 (MeOH)	C H N	65.19 5.94 7.13	64.88 5.64 6.86	-109.8 c0.34

Tab 2. Spectral data of compounds

Compd.	IR (KBr), cm <sup>-1</sup>	<sup>1</sup> H NMR, d-DMSO, δ ppm	MS, m/z
10a	3400, 1775, 1650	8.15 (s, 1H, ArNHCO), 7.80 (d, 1H, J = 4.0 Hz, NHCO), 7.35-7.60 (m, 4H, NArH), 6.80 (s, 1H, N-5), 6.45 (s, 1H, H-8), 6.30 (s, 2H, H-2', 6'), 5.90 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.10 (q, J = 4.0 Hz, 1H, H-4), 4.50 (d, 1H, J = 5.5 Hz, H-1), 3.40 (s, 6H, 2 × OCH <sub>3</sub> ), 2.80 (m, H-2, 3)	536 (M <sup>+</sup> ) 398.382
10b	3300, 1760, 1670	8.25 (s, 1H, ArNHCO), 8.10 (d, 1H, J = 4.0 Hz, NHCO), 7.30-7.65 (m, 3H, NArH), 6.85 (s, 1H, H-5), 6.50 (s, 1H, H-8), 6.25 (s, 2H, H-2', 6'), 5.95 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.10 (q, J = 4.0 Hz, 1H, H-4), 4.60 (d, J = 5.0 Hz, 1H, H-1), 3.65 (s, 6H, 2 × OCH <sub>3</sub> ), 2.90 (br, 2H, H-2, 3)	586 (M <sup>+</sup> ) 382
10c	3450, 1740, 1660	8.30 (s, 1H, ArNHCO), 7.60 (d, 1H, J = 4.0 Hz, NHCO), 7.30-7.55 (m, 3H, NArH), 6.80 (s, 1H, H-5), 6.50 (s, 1H, H-8), 6.25 (s, 2H, H-2', 6'), 5.90 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.15 (q, 1H, J = 4.0 Hz, H-4), 4.55 (d, 1H, J = 5.0 Hz, H-1), 3.70 (s, 6H, 2 × OCH <sub>3</sub> ), 2.85 (br, 2H, H-2, 3)	608 (M <sup>+</sup> ) 383
10d	3350, 1770, 1625		19(M <sup>+</sup> ) 382
10e	3350, 1770, 1660	8.15 (s, 1H, ArNHCO), 7.80 (d, 1H, J = 4.0 Hz, NHCO), 7.35-7.60 (m, 2H, NArH), 6.85 (s, 1H, H-5), 6.55 (s, 1H, H-8), 6.20 (s, 2H, H-2', 6'), 5.80 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.20 (q, 1H, J = 4.0 Hz, H-4), 4.50 (d, 1H, J = 5.0 Hz, H-1), 3.65 (s, 6H, 2 × OCH <sub>3</sub> ), 2.75 (br, 2H, H-2, 3)	
10f	3550, 1775, 1640	8.35 (s, 1H, ArNHCO), 8.10 (d, 1H, J = 4.0 Hz, NHCO), 7.50-7.85 (m, 4H, NArH), 6.90 (s, 1H, H-5), 6.60 (s, 1H, H-8), 6.30 (s, 2H, H-2', 6'), 5.80 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.35 (q, 1H, J = 4.0 Hz, H-4), 4.50 (d, 1H, J = 5.0 Hz, H-1), 3.65 (s, 6H, 2 × OCH <sub>3</sub> ), 2.85 (br, 2H, H-2, 3)	548 (M <sup>+</sup> ) 398.382
10g	3440, 1760, 1640		
10h	3340, 1780, 1665	8.10 (s, 1H, ArNHCO), 7.85 (s, 1H, NHCO), 6.55-7.20 (m, 4H, ArH), 6.85 (s, 1H, H-5), 6.45 (s, 1H, H-8), 6.20 (s, 2H, H-2', 6'), 5.95 (d, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.0 (m, 1H, H-4), 4.45 (d, 1H, J = 5.5 Hz, H-1), 4.15 (d, 2H, J = 8.0 Hz, 2H, 2 × H-11), 3.65 (s, 6H, 2 × OCH <sub>3</sub> ), 2.95-3.05 (m, H-2, H-3), 2.75 (s, 6H, 2 × CH <sub>3</sub> )	561 (M <sup>+</sup> ) 382
10i		8.15 (s, 1H, ArNHCO), 7.80 (d, 1H, J = 4.0 Hz, NHCO), 7.10-7.45 (m, 3H, NArH), 6.75 (s, 1H, H-5), 6.45 (s, 1H, H-8), 6.25 (s, 2H, H-2', 6'), 5.95 (d, 2H, J = 4.0 Hz, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.0 (q, J = 4.0 Hz), 4.45 (d, 1H, J = 8.0 Hz, H-1), 3.80 (s, 3H, NAr-O-CH <sub>3</sub> ), 3.70 (s, 3H, NArOCH <sub>3</sub> ), 3.60 (s, 6H, 2 × CH <sub>3</sub> ), 2.95 (s, 1H, H-2), 2.70 (s, 1H, H-3)	578 (M <sup>+</sup> ) 383
10j	3440, 1775, 1625	8.20 (s, 1H, ArNHCO), 7.90 (s, 1H, NHCO), 6.90-7.10 (m, 4H, ArH), 6.80 (s, 1H, H-5), 6.40 (s, 1H, H-8), 6.30 (s, 2H, H-2', 6'), 5.90 (d, 2H, OCH <sub>2</sub> O), 5.0 (m, 1H, H-4), 4.60 (d, 1H, J = 5.5 Hz, H-1), 4.15 (d, 2H, J = 8.0 Hz, 2H, 2 × H-11), 3.65 (s, 6H, 2 × OCH <sub>3</sub> ), 2.85-3.05 (m, H-2, H-3), 2.70 (s, 6H, 2 × CH <sub>3</sub> )	589 (M <sup>+</sup> ) 399.382

化合物进行了体外 L1210 白血病肿瘤细胞与 KB 细胞生长抑制试验(数据见表 3)。结果表明这类化合物具有较为显著的抗肿瘤活性。其中活性超过依托泊甙的有 8 个化合物,尤其是 10<sub>e</sub> 和 10<sub>h</sub> 等的抑制活性很高。实验中还有意识地合成了化合物 11,其结构与标题化合物相比,主要差别在于氨基甲酰胺结构中 N 原子换成氧原子,但抗瘤活性差异显著,活性较低。

Tab 3. *In vitro* antitumor activities of the title compounds

No.	Against L1210(IC <sub>50</sub> )		Against KB cells, $\mu\text{g/ml}$							
	$\mu\text{g/ml}$	mol/ml	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>0</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>		
10a	$6.69 \times 10^{-3}$	$1.15 \times 10^{-11}$	—	—	+	++	+++	+++		
10b	$2.26 \times 10^{-2}$	$3.74 \times 10^{-11}$	—	—	—	++	+++	+++		
10c	$1.73 \times 10^{-2}$	$2.85 \times 10^{-11}$	—	+	++	+++	+++	+++		
10d	$6.62 \times 10^{-2}$	$1.23 \times 10^{-10}$	—	—	—	+	++	+++		
10e	$8.82 \times 10^{-1}$	$1.42 \times 10^{-9}$	—	—	—	++	+++	+++		
10f	$5.11 \times 10^{-3}$	$2.06 \times 10^{-11}$	—	—	+	++	+++	+++		
10g	$5.11 \times 10^{-3}$	$8.40 \times 10^{-12}$	—	—	+	++	+++	+++		
10h	$4.17 \times 10^{-3}$	$7.43 \times 10^{-12}$	—	—	++	+++	+++	+++		
10i	$3.29 \times 10^{-2}$	$5.69 \times 10^{-11}$	—	—	+	++	+++	+++		
10j	$4.02 \times 10^{-2}$	$6.82 \times 10^{-10}$	—	—	—	—	++	++		
11	2.09	$3.92 \times 10^{-9}$	—	—	—	—	++	++		
Etoposide	$1.10 \times 10^{-1}$	$1.68 \times 10^{-10}$	—	—	—	+	+	++		

## 实验部分

熔点未经校正;红外光谱用 Nicole FT-IR 203×B 型仪测定,KBr 压片;质谱用 Varian MAT 212 型仪测定;<sup>1</sup>H 核磁共振谱用 Varian FT-80 A 型(80 MHz)或 Perkin-Elmer R-32 型仪(90 MHz)测定,TMS 为内标,DMSO-d<sub>6</sub> 为溶剂;[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> 用 J-MD2P-18 型数字显示旋光仪测定,DMF 作溶剂;元素分析用 Carlo-Erba 1106 型元素自动分析仪测定。

### 4-氨基-4'-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(7)

按文献方法制备<sup>[4]</sup>。异丙醇重结晶,mp 229-230℃(文献值 229-230℃<sup>[3,4]</sup>)。

### 4-取代氨基甲酰胺基-4'-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素衍生物(10)

将取代芳香胺(0.5 mmol)溶解于二氯甲烷 2 ml 中,冰水浴冷却。搅拌和充氮条件下,缓慢滴加光气苯溶液 2.70 ml(每 60 ml 苯中含光气 1.2 g)。反应液

呈浑浊状态。20 min 后,加入三乙胺 0.4 ml。继续搅拌反应 30 min,投入 4-氨基-4'-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(7) 0.2 g(0.5 mmol)。室温与充氮条件下反应过夜。TLC[(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Et<sub>2</sub>O(1:1))]检测反应终点。减压浓缩反应液至 3 ml 左右,干柱层析分离(25 g 硅胶,10~40  $\mu$ )。用二氯甲烷-乙醚(1:1)作洗脱剂洗脱。收集产品溶液。减压蒸除溶剂后得干粉状或糊状粗品。甲醇或异丙醇重结晶得白色晶体。

### 4-氧基甲酰胺基-4'-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(11)

取 4-氨基-4'-脱氧-4'-去甲基表鬼臼毒素(7) 0.1 g(0.25 mmol)和三乙胺 0.1 ml 溶于适量二氯甲烷中。冰水浴冷却至 0℃,搅拌下滴加氧基甲酰胺 0.086 ml(0.25 mmol)的二氯甲烷溶液。室温搅拌反应 5 h。TLC[(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Et<sub>2</sub>O(1:1))]检测反应终点。减压蒸除溶剂后,残留物加入乙酸乙酯-苯混合溶剂(2:1)。有机层经稀 HCl 水洗涤后,用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥。减压蒸除溶剂。粗品层析分离(硅胶 25 g,10~40  $\mu$ )。二氯甲烷-乙醚(1:1)作洗脱剂。收集产品溶液,蒸除溶剂后,油状物用无水乙醚研磨析晶,得类白色粗品。经甲醇重结晶,得白色晶体(0.04 g,30%);mp 172-174℃(MeOH);[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> -78.40(c 0.32, DMF);Anal C<sub>29</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>9</sub>, C 65.00, H 5.07, N 2.65(Req C 65.29, H 5.07, N 2.63);IR (KBr)  $\nu$  3350, 3250, 1750, 1645 cm<sup>-1</sup>; <sup>1</sup>HNMR (d<sub>6</sub>-DMSO)  $\delta$  8.25 (s, 1H, ArNHCO), 7.90 (d, 1H, J=4.0 Hz, NHCO), 7.10~7.65 (m, 5H, 侧链 Ar-H), 6.85 (s, 1H, H-5), 6.50 (s, 1H, H-8), 6.30 (s, 2H, H-2', 6'), 5.90 (d, 2H, J=4.0 Hz, OCH<sub>2</sub>O), 5.40 (q, 1H, J=4.0 Hz, H-4), 4.40 (d, 1H, J=8.0 Hz, H-1), 3.85 (s, 6H, 2×OCH<sub>3</sub>), 2.90 (s, 1H, H-2), 2.75 (s, 1H, H-3) ppm; MS *m/z* 533 (M<sup>+</sup>)。

## 参考文献

- Issell BF. The podophyllotoxin derivatives VP 16-213 and VM-26. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1982;7:73
- 尹述凡,王志光,王天都等. 鬼臼毒素分子作用机制与立体化学研究现状. *中国医药工业杂志*, 1991;22:234
- 日本公开特许公报. 1988;63-23884
- 中国专利. 91 1.07437.6
- 尹述凡,张椿年,马维勇等. 鬼臼毒素类似物的化学与抗肿瘤活性. *中国医药工业杂志*, 1992;23:413
- Kuhn M, Keller-Julsen C, Wartburg AV. Partial synthesis von 4'-demethylepipodophyllotoxin. *Helv Chim Acta*, 1969;52:944

# Synthesis and Antitumor Activity of 4-Substituted Formamylamino-4-Deoxy-4'-Demethylepipodophyllotoxin Analogues

Yin Shufan, Wang Zhiguang, Ma Weiyong, Dong Xiucheng, Wang Tiandu, Chen Xiuhua, Zhang Chunnian

Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437

A series of 4-substituted formamylamido-4-deoxy-4'-demethylepipodophyllotoxins were synthesized in six steps, and evaluated for their inhibitory activity against L1210 leukemia and KB cells (*in vitro*). These compounds exhibited remarkable antitumor activity and are more potent than etoposide (VP-16-213).

**Key words** Podophyllotoxin; 4-Substituted formamylamido-4-deoxy-4'-demethylepipodophyllotoxin analogues; Antitumor activity

【文摘 018】小檗胺化合物  $E_6$  与钙调素依赖的肌球蛋白轻链激酶的相互作用 胡卓逸, 贡岳松, 黄文龙. *Biochemical Pharmacology*, 1992; 44(8): 1543—7

苄基异喹啉类化合物有广泛的药理作用。小檗胺类化合物有抗心律失常及降压作用, 作者研究了小檗胺衍生物  $E_6$  对肌球蛋白轻链激酶 (MLCK) 活力的影响。MLCK 活力的测定是以肌球蛋白轻链 (MLC) 为底物, 催化  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  使 MLC 磷酸化, 存在或不存在 CaM 的条件下反应, 终止反应后, 除去过量的  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  后, 用 Beckman 5801 液闪计数器计数。

CaM 诱导的 MLCK 活力可随加入反应体系中  $E_6$  浓度的增加而被逐渐抑制, 加入过量 CaM 可以消除这种抑制作用, 表明 MLCK 活力的抑制作用是  $E_6$  直接与 CaM 作用的结果。反之, 测定 MLCK 的刺激曲线时, 对其活力的抑制作用随  $E_6$  浓度的减小而削弱, 说明  $E_6$  的作用有浓度依赖性, 间接地暗示  $E_6$  可能与 CaM 结合。增加 CaM 量或减小  $E_6$  的量, 反应体系中游离 CaM 量相对增加了, 这样被  $E_6$  抑制的 MLCK 活力也恢复了。动力学测定表明, 化合物  $E_6$  起了竞争性抑制作用,  $K_i$  为  $0.95\ \mu\text{M}$ 。

为了阐明  $E_6$  和 CaM 的直接相互作用, 采用荧光分光光度法检测, 用 DNS-CaM (D-CaM) 在激发波长

和发射波长分别为 340 和 490 nm 时, 测定有  $\text{Ca}^{2+}$  和无  $\text{Ca}^{2+}$  (有 EGTA) 情况下荧光的改变, 表明  $E_6$  会削弱 D-CaM 的荧光, 在同样存在  $\text{Ca}^{2+}$ 、D-CaM 和  $E_6$  的情况下, 增加 CaM 量可增强荧光的强度。 $E_6$  与 D-CaM 结合的解离常数约为  $1\ \mu\text{M}$ 。 $E_6$  和三氟啦嗪 (TFP) 都能降低 D-CaM 的荧光, 但前者降低的强度比后者强。当存在 EGTA 时,  $E_6$  不影响 D-CaM 荧光, 表明  $E_6$  以依赖于钙的方式直接作用于 CaM。

研究化合物  $E_6$  对胰蛋白酶限制性酶解段片的活力的影响, 发现  $E_6$  不影响 MLCK 段片的活力, 这一结果从另一方面说明小檗胺衍生物  $E_6$  抑制 MLCK 的活力是在  $\text{Ca}^{2+}$  存在下因为它拮抗 CaM 而引起的。

【文摘 019】四季青的化学成分研究 赵浩如, 王明时, 周国平, 秦国伟. *中国中药杂志*, 1993; 18(4): 226—8

从四季青叶中分离并鉴定了原儿茶酸, 咖啡酸, 丁香酚, 救必应酸和长梗冬青甙。还分离到一个新化合物环己酮长梗冬青甙基-3, 23-O-缩酮, 可能为提取中产生的长梗冬青甙衍生物, 由于在实验中为防止减压浓缩时皂甙水溶液起泡, 加过少量环己酮, 故推测该化合物可能为人工产物。