

## 4'-去甲苦鬼臼毒酮的化学结构研究

谢小敏 罗厚蔚 丹羽正武<sup>1</sup>

(中国药科大学天然药物化学教研室, 南京 210009; 名城大学药学部, 天白区 468, 名古屋, 日本)

**摘要** 从桃儿七 (*Podophyllum emodi* Wall var. *Chinese sparague*) 的根茎中分得 9 个鬼臼树脂类化合物, 对其中的 4'-去甲苦鬼臼毒酮, 采用了 CD 谱及 600 兆核磁共振谱, 运用 DIF-NOE 技术确定了它的立体结构为  $\beta$ ,  $\beta$ ,  $\beta$ , 4'-去甲苦鬼臼毒酮, 该化合物对 p388 小鼠淋巴白血病的  $ID_{50}$  为  $7.58 \times 10^{-3}$  mg/ml

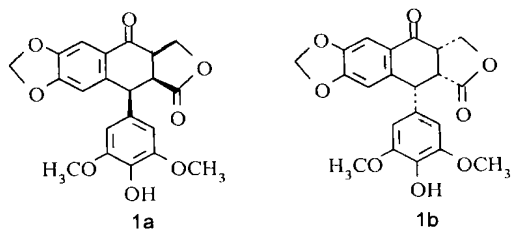
**关键词** 鬼臼树脂; 4'-去甲鬼臼毒酮; 4'-去甲苦鬼臼毒酮; 4-乙氧基苦鬼臼毒醚; DIF-NOE 谱

鬼臼毒素除作为治疗尖锐湿疣、抑制疱疹病毒外, 也作为抗肿瘤药依托泊甙的合成前体物而倍受重视, 我国西北诸省资源丰富极具开发前景。本文从桃儿七 (*Podophyllum emodi* Wall. var. *Chinese sparague*) 根茎的乙醇提取物中除分离到主成分鬼臼毒素外, 通过硅胶柱层析、制备薄层还得到 4'-去甲鬼臼毒酮和它的异构体 4'-去甲苦鬼臼毒酮 (**1a**), 其含量为 0.012%。

化合物 **1a**, 浅黄色粉末状结晶,  $C_{21}H_{18}O_8$ , 高分辨质谱显示分子量为 398.0990, 计算值 398.0996  $m/z$  353 ( $M^+ - CO_2 - H$ ), 299, 283, 188, 154  $IR_{\max}$   $cm^{-1}$  3600~3200 (羟基), 1760 ( $\gamma$ -内酯羰基), 1670 (酮羰基)。由此说明化合物 **1a** 为鬼臼内酯类化合物。NMR 400 MHz ( $CDCl_3$ )  $\delta_1$  显示 6.27 (2H, s, H-2', 6'), 6.07 (d,  $J = 1.2$  Hz, O-CH<sub>2</sub>-O), 3.75 (6H, 3', 5'-OMe), 7.42 (s, H-5), 6.68 (s, H-8), 4.56 (d,  $J = 5.6$  Hz, H-1), 3.72 (dd,  $J = 5.6, 7.3$  Hz, H-2), 3.57 (ddd,  $J = 7.3, 9.0, 13.9$  Hz, H-3), 4.51 (dd,  $J = 9.0, 9.3$  Hz, H-3 $\alpha$ ), 3.81 (dd,  $J = 9.3, 13.9$  Hz, H-3 $\beta$ )。以上氢谱数据与已知化合物 4'-去甲鬼臼毒酮非常近似<sup>[1]</sup>, 其中, 唯一的主要区别是化合物 **1a** 的偶合常数  $J_{3\beta} = 7.3$  Hz, 而鬼臼毒酮的  $J_{3\beta} = 15.5$  Hz。该数据与 Jackson 所发表的 4'-去甲异苦鬼臼毒酮 (**1b**) 的氢谱数据也近乎一致, 但当年由于样品量太少并未测其旋光光谱, 仅依据该鬼臼内酯在 C-3 位发生的异构化; 由通常的  $\beta$  取代异构化为  $3\alpha$  取

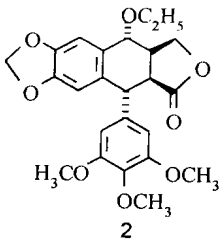
代, 从而导致偶合常数的改变, 因而冠以 isopicro- 全名为 4'-demethyl isopicropodophyllone。<sup>[1]</sup>

但根据 P. Crabbe 及 W. Klyne 对 76 个结构已知的苯代四氢萘型的木脂素所进行的 ORD Cotton 效应在 290~280 nm 所总结的经验规律看, 对鬼臼内酯的绝对构型也可采用 CD 谱的测定来加以确证<sup>[2]</sup>。已知苯代四氢萘型的木脂素的 CD 谱主要有两个 Cotton 效应, 分别位于 (1) 298~280 nm, (2) 245~230 nm 处, 其中, 当测定的第一个 Cotton 效应为负值时, 应是  $\beta$  取代苯。而化合物 **1a** 在 292 nm 处呈明显的负值,  $\Delta\epsilon = -6.8$ , 因此可以断定化合物为  $\beta$  取代苯。下面问题就是如何确定 C-2, C-3 的立体构型。较之用  $H_2, H_3$  之间的偶合常数  $J_{23}$  来判断它们的构型, 用 DIF-NOE 当然更为准确可靠。鉴于以往对鬼臼内酯测试的 NMR 谱多用  $CDCl_3$  为溶剂, 其中较多的  $\delta_1$  值分辨率不够理想, 参阅本文以上的 NMR 400 MHz ( $CDCl_3$ ) 氢谱数据。经过很多次的筛选, 找到了以  $C_6D_6$  为测试溶剂, 获得  $\delta_1$  理想的分辨。在此基础上进行了 DIF-NOE 测试, 证实了 H-1 与 H-2; H-2 与 H-3; H-3 与



H-3 $\alpha$  均处于同侧, 因此化合物 **1a** 的绝对构型应为  $\beta, \beta, \beta, 4'$ -去甲苦鬼臼毒酮 ( $\beta, \beta, \beta, 4'$ -demethylpicropodophyllone

化合物 **2**(4-乙氧基苦鬼臼毒醚), 白色粉状结晶, m. p. 225~ 226 $^{\circ}\text{C}$ , IR<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup> 1771 ( $\gamma$ -内酯羰基), 1590, 1503, 1477 (苯环), 1246, 1132, 1037 (C-O), 931(O-CH<sub>2</sub>-O), 示为鬼臼内酯类木脂素, 高分辨质谱给出分子式为 C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>O<sub>8</sub>, 显示分子量为 442. 1565, 计算值 442. 1620 m/z 427 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 396 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>OH), 383, 367, 357, 338, 327, 312, 297, 282, 230, 181, 168, 示为鬼臼内酯类木脂素的裂解



与鬼臼毒素相比, 化合物 **2** 的氢谱  $\delta_{\text{H}}$  在 1. 26 (3H, t, J = 7. 0 Hz), 3. 73 (1H, m), 3. 64 (1H, m) 多出一组 CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub> 的相关峰, 说明化合物 **2** 为 4-乙氧基取代. 化合物 **2** 的 H-2', 6' 的化学位移  $\delta_{\text{H}}$  6. 44 较 H-8 的 6. 3 要处于较低场, 这一点较鬼臼毒素的情况正相反, ( $\delta$  H-2', 6': 6. 35, H-8 6. 47); 在碳谱中, 化合物 **2** 的 C-2a 的化学位移 178. 2, 和化合物鬼臼毒素的 C-2a 的 174. 7 比较位于较低场, 而与苦鬼臼毒素 C-2a 177. 5 接近, 说明化合物 **2** 的 H-1 与 H-2 处于反式位置, 而内酯环则为顺式耦合. 从检阅文献中得知: 化合物 **2** 可由鬼臼毒素在乙醇缓冲液中 (pH 4. 5) 经加热转化而得<sup>[3]</sup>. 化合物 **2** 的绝对构型也可由 CD 谱确定: (1) 287 nm 处有正的 Cotton 效应,  $\Delta\epsilon = + 1. 2$ , 由此可知化合物 **2** 为 1 $\alpha$  取代苯.

细胞毒活性

鬼臼树脂类细胞毒活性是采用对 p388 小鼠淋巴瘤白血病的 ID<sub>50</sub> 表示, 见下表:

| Tab 1. Cytostatic Activity of Podophyllotoxin Derivatives |                                                 |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Compound                                                  | Cytostatic Activity<br>(ID <sub>50</sub> mg/ml) |
| Podophyllotoxin                                           | 7. 73 $\times 10^{-3}$                          |
| 4'-demethylpodophyllotoxin                                | 5. 60 $\times 10^{-3}$                          |
| Deoxypodophyllotoxin                                      | 1. 29 $\times 10^{-3}$                          |
| 4'-demethyldeoxypodophyllotoxin                           | 8. 17 $\times 10^{-3}$                          |
| Podophyllotoxone                                          | 1. 18 $\times 10^{-3}$                          |
| 4'-demethylpodophyllotoxone                               | 5. 50 $\times 10^{-3}$                          |
| Dehydripodophyllotoxin                                    | 1. 38                                           |
| $\beta, \beta, \beta, 4'$ -demethylpicropodophyllone      | 7. 58 $\times 10^{-3}$                          |
| Hemipodophyllin 4-ethyl ether                             | 15. 61                                          |

实验部分

核磁共振仪为 JNM-GX 60(型, TMS 为内标, 溶剂 C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, CD 谱采用 J-500 A 型, 圆二色谱仪 (带 DP-50 型微机), 溶剂 MeOH

化合物 **1a**(4'-去甲苦鬼臼毒酮) 淡黄色粉状晶体, mp 141~ 142 $^{\circ}\text{C}$  (丙酮), IR<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup> 3600~ 3200 (羟基), 1760( $\gamma$ -内酯羰基), 1670(酮羰基), 1612, 1520, 1503, 1110, 1030, 925; EI-MS m/z (rel. Int) 398 (100), 353 (36), 339 (29), 313 (4. 4), 283 (18. 1), 167 (6. 5), 154 (9. 7); CD 谱: 207nm,  $\Delta\epsilon = - 22. 8$ ; 218nm,  $\Delta\epsilon = + 8. 2$ ; 243 nm,  $\Delta\epsilon = + 15. 6$ ; 274 nm,  $\Delta\epsilon = + 6. 4$ ; 292 nm,  $\Delta\epsilon = - 6. 8$ ; 330 nm,  $\Delta\epsilon = - 10. 9$ . <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  7. 53 (1H, s, H-5), 6. 43 (2H, s, H-2', 6'), 6. 32 (1H, s, H-8), 5. 05, 5. 13 (2H, s, -O-CH<sub>2</sub>-O), 4. 10 (1H, d, J = 5. 87 Hz, H-1), 3. 92 (1H, dd, J = 9. 16, 18. 3 Hz, H-3 $\alpha$ ), 3. 75 (1H, dd, J = 8. 43, 16. 85 Hz, H-3 $\alpha$ ), 3. 35 (6H, s, OM $\times$ 2), 2. 82 (1H, dd, J = 9. 89, 5. 86 Hz, H-2), 2. 61 (1H, ddd, J = 9. 53, 9. 53, 8. 42 Hz, H-3).

<sup>13</sup>C NMR (150 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>):  $\delta$  44. 225 (C-1), 45. 276 (C-2), 174. 745 (C-2a), 45. 082 (C-3), 69. 081 (C-3a), 193. 915 (C-4), 106. 063 (C-5), 148. 319 (C-6), 153. 124 (C-7), 108. 547 (C-8), 139. 632 (C-9), 128. 534 (C-10), 129. 302 (C-1'), 107. 171 (C-2', 6'), 147. 765 (C-3', 5'), 135. 798 (C-4'), 101. 841 (OCH<sub>2</sub>O), 55. 970 (3', 5'-OCH<sub>3</sub>)

Tab 2 The data of DIF-NOE of compound **1a**

| Irradiation (δ <sub>H</sub> ) | NOE enhancements (%) | Correlation                |
|-------------------------------|----------------------|----------------------------|
| 2.61 (H-3)                    | H-2 7.62;            | H-3→ H-2 cis               |
| 2.82 (H-2)                    | H-3 6.96             | H-2→ H-1 cis               |
| 3.92 (H-3 <sub>ax</sub> )     | H-3 12.88            | H-3→ H-3 <sub>ax</sub> cis |
| 4.10 (H-1)                    | H-2 12.64            | H-1→ H-2 cis               |

化合物 **2** (4-乙氧基苦鬼白毒醚) 白色粉状晶体, 丙酮, mp 225~ 226℃ IR<sub>max</sub> cm<sup>-1</sup>: 1771, 1590, 1503, 1477, 1246, 1132, 1037, 931; EI-MS m/z (rel. Int): 442 (1.5), 397 (13.5), 396 (39.4), 383 (5.5), 367 (17.5), 357 (3.0) 312 (17.8), 297 (12.8), 230 (8.0), 181 (7.7), 168 (14.4) CD谱: 287nm, CE<sup>+</sup> Δε= + 1.2; 210nm, CE<sup>+</sup> Δε= + 13.7

致谢 上海药物所沈春镒老师代测 CD谱, 上海医工院药理室刘全海主任代做 P388细胞毒性活性试验。

参考文献

- 1 Jackson DE, Dewick PM. Aryltetralin lignins from *Podophyllum hexandrum* and *Podophyllum peltatum*. *Phytochemistry*, 1984, **23** 1147
- 2 Crabbe P, Klyne W. Optical rotatory dispersion and circular dichroism of aromatic compounds A general survey. *Tetrahedron*, 1967, **23** 3449
- 3 Buchapot O, Jensen RB, Hansen HF. Thermal chemistry of podophyllotoxin in ethanol and a comparison of the cytostatic activity of the thermolysis products. *J Pharm Sci*, 1986, **75** 1076

# Stereochemistry Studies of β, β, β, 4'-Demethylpicropodophyllone

XIE Xiao-Min, LUO Hou-Wei, Niwa Masatake  
China Pharmaceutical University, Nanjing, 210009, China, Faculty of Pharmacy, Meijo University, Tempaku, Nagoya 468, Japan

**Abstract** Nine aryltetralin lignans were isolated from the rhizome of *Podophyllum emodi* Wall var. *Chinese sparague* among them, and the absolute configuration of 4'-demethylpicropodophyllone **1a** was determined by using CD spectra and DIF NOE (600MHz), reference with the CD spectra of known compound the ethyl ether of picropodophyllotoxin **2**. The cytostatic activity of the podophyllotoxin derivatives was determined by their ability to inhibit the growth of P388 mouse leukaemia tumor cells in culture, and the results were presented.

**Key words** Podophyllin; β, β, β, 4'-demethylpicropodophyllone; Picropodophyllin 4-ethyl ether; DIF-NOE