

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

本土植物之活性成分探索 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型
計畫編號：NSC 98-2113-M-039-002-
執行期間：98年08月01日至99年07月31日
執行單位：中國醫藥大學中國藥學研究所

計畫主持人：郭悅雄

計畫參與人員：博士後研究：邱錫臨

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 99 年 10 月 26 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

本土植物之活性成分探索

Discovery of Natural Active Principles from the Native Plants

計畫編號：NSC 98-2113-M-039-002

執行期限：98 年 8 月 1 日至 99 年 7 月 31 日

主持人：郭悅雄 中國醫藥大學中國藥物研究所

計畫參與人員：邱錫臨

一、中文摘要

從黃花波斯菊之甲醇萃取物，經層析的分析及高壓層析共得 11 種化合物，其中兩種 Sesquiterpene 叫 cosmosoic acid (1) 及 cosmosaldehyde (2) 為新骨架化合物，其它有 9 種已知化合物，分別為甲苯酸及酚類、固醇類、及倍半萜，而化合物 9 其具有抗癌特性，對 Hep 3B 之 IC_{50} 為 19.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

柳杉的樹脂可治皮膚病，樹皮有殺菌的成分可治癬瘡，因皮部含多量二萜、木酚素，cadinane 有抗癌及抗黴菌功能。柳杉皮部之萃取之 KB cell 之抑制成長 IC_{50} 為 35 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，所以研究皮部有活性成分，在甲醇萃取物得一 C_{35} 之新骨架化合物叫 cryptorione (13) 及其它已知化合物共 10 種，分別為倍半萜、雙萜、木酚素及固醇類，化合物 13 對 KB cell 抑制之 IC_{50} 為 6.44 \pm 2.23 μM 。

關鍵詞：黃花波斯菊、柳杉、萜類、木酚素。

Abstract

Two novel sesquiterpenes, cosmosoic acid (1) and cosmosaldehyde (2), together with nine known compounds, were isolated from whole plant of *Cosmos sulphureus*. These nine known compounds contain benzoic acid, phenol, steroid, and sesquiterpenes. Compound 9 possesses medium anticancer activity, against Hep3B with IC_{50} 19.4 μM .

The resin and bark of *Cryptomeria japonica* were used as treatment of skin disease and antibiotic (anti-bacteria and antifungi). The barks of *C. japonica* contain great amount of diterpenes, lignans, and

cadinans. Abietanes diterpenes, cadinans, and lignans derivatives exhibited the activity of anticancer and antibiotic. In our previous test, the crude methanol extracts from bark possessed anti KB cell with IC_{50} 35 $\mu\text{g}/\text{ml}$. After separation of methanolic extract from bark of *C. japonica*, one novel C_{35} -terpene, Cryptorione (13) and ten known compounds were isolated and elucidated. Compound 13 exhibited an IC_{50} value of 6.44 \pm 2.23 μM against KB cell. And ten known compounds are sesquiterpenes, diterpenes, lignans, and steroids.

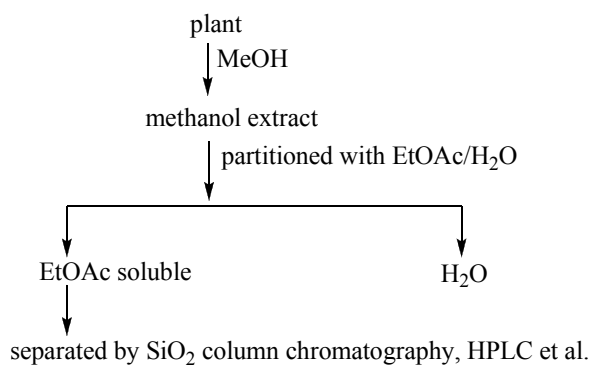
Keywords: *Cosmos sulphureus*, *Cryptomeria japonica*, terpenes, lignans.

二、Purpose of Project

In this study, we try to find the biological compounds and search different compounds in order to understand the plant biosynthesis. The methanol extract from *Cosmos sulphureus* expressed anti-cancer activity against KB-cell with IC_{50} 40 mg/ml . We try to study the chemical components and biological active compounds. The resin and barks of *Cryptomeria japonica* were used as treatment of skin disease and antibiotic. The bark of *C. japonica* contain great amount of abietanes, lignans, and cadinans. Those derivatives exhibited the activities of anticancer, anti-fungi, and anti-bacteria. In our previous testing, the crude extracts from the bark possessed anti KB-cell proliferation with IC_{50} 45 mg/ml .

三、Content of Project

The separative procedure of every plant was achieved as following:



Every pure compound was elucidated by spectra method including $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ and 2D techniques.

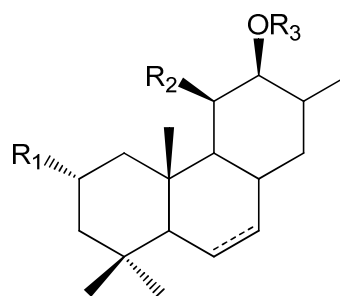
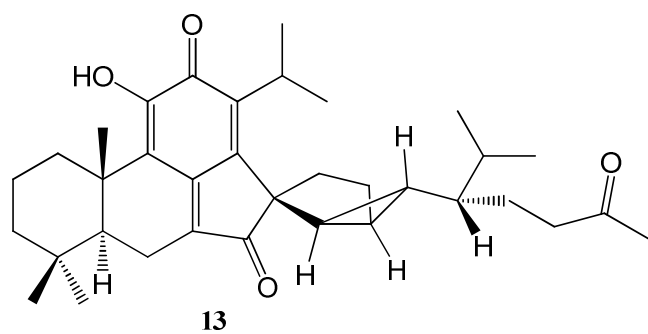
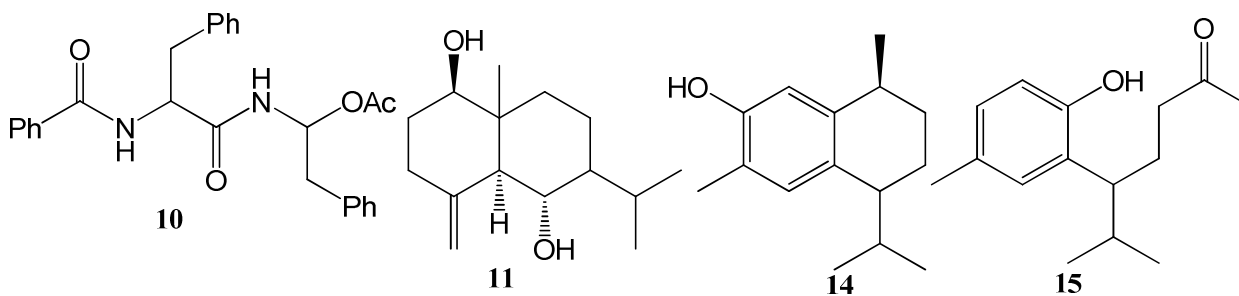
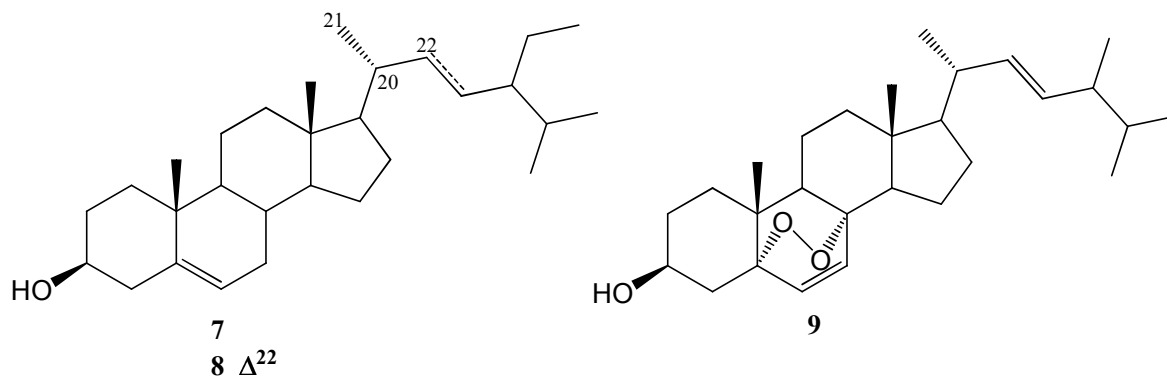
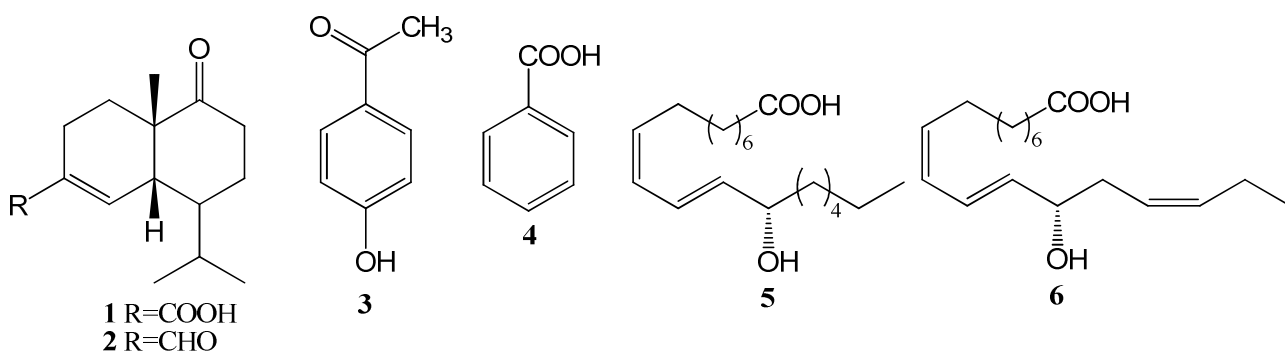
Two novel 15(10 \rightarrow 1)abeomurolane sesquiterpenes, comosic acid (**1**) and cosomaldehyde (**2**), were isolated from the whole plant of *Cosmos sulphureus*. Their structures were established by a combination of 1D- and 2D-NMR spectroscopic techniques. Beside the above two novel compounds, nine known compounds were also isolated from same extract. They are identified as 4-hydroxyacetophenone (**3**), benzoic acid (**4**), (9Z,11E,13S)-13-hydroxyoctadeca-9,11-dienoic acid (**5**), (9Z,11E,13S,15E)-13-hydroxyoctadeca-9,11,15-trienoic acid (**6**), β -sitosterol (**7**), stigmasterol (**8**), ergosterol peroxide (**9**), saropeptate (**10**) and 4-(15)-Eudesmene-1 β ,6 α -diol (**11**). Comp. **9** possesses medium anticancer activity against Hep3B cell with IC_{50} 19.4 μm . Comp. **1** and **2** are novel skeletons, the biotransformation of two novel **1** and **2** presumably starts from (1 α ,10 α)-cadin-4-ene-1,10-diol (**12**) via the pathway sketched in the scheme 1.

A novel C_{35} -terpene, designated as cryptotrione (**13**), with an unprecedented skeleton possessing an abietane diterpene with a unique bicyclic sesquiterpene, is identified from the bark of *Cryptomeria japonica*. The carbon skeleton of **13** represents a new structural entity, and this is an intriguing addition to the structurally diverse diterpene-sesquiterpene class. A unique biosynthetic pathway is proposed to support the production of this phytochemical. Notably, comp. **13** exhibits anti-cancer activity with an IC_{50} value of $6.44 \pm 2.23 \mu\text{M}$. Ten known compounds **14-23** were also isolated from same extract. And their structures were determined from spectra data, and compared with literature. They are

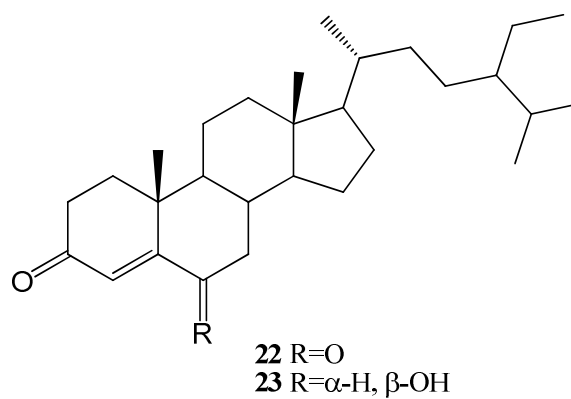
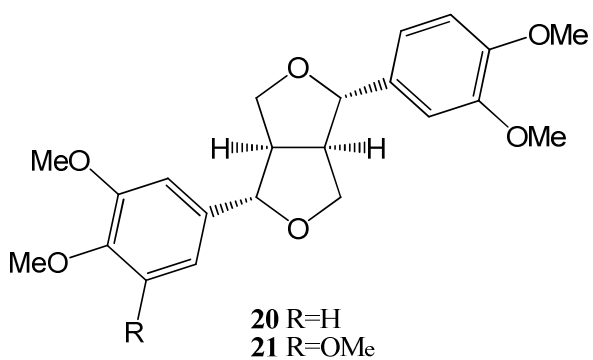
3-hydroxycalamene (**14**), sesquichamaenol (**15**), ferruginol (**16**), salviol (**17**), 6,7-dehydroferruginol (**18**), 6,7-dehydrodeoxocryptojaponol (**19**), rudemin (**20**), magnolin (**21**), stigmast-4-ene-3,6-dione (**22**) and 6 β -hydroxystigmast-4-ene-3-one (**23**). Plausible biosynthetic pathway for **13** was described as in scheme 2.

Published papers

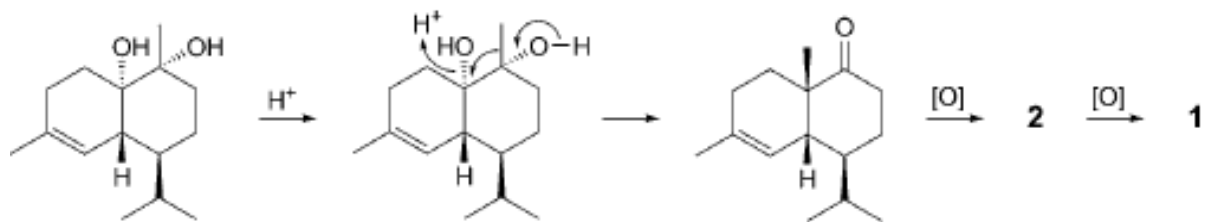
1. Wu, J. H., Y. F. Chang, Y. T. Tung, M. Tsuzuki, A. Izuka, S. Y. Wang, and Y. H. Kuo,* 2010. Two Novel 15(10 \rightarrow 1)Abeomurolane Sesquiterpenes from *Cosmos sulphureus*, *Helv. Chim. Acta.*, **93**, 753-756.
2. Chen, C. C., J. H. Wu, N. S. Yang, J. Y. Chang, C. C. Kuo, S. Y. Wang, and Y. H. Kuo,* 2010. Cytotoxic C_{35} Terpenoid Cryptotrione from the Bark of *Cryptomeria japonica*, *Org. Lett.*, **12**, 2786-2789.



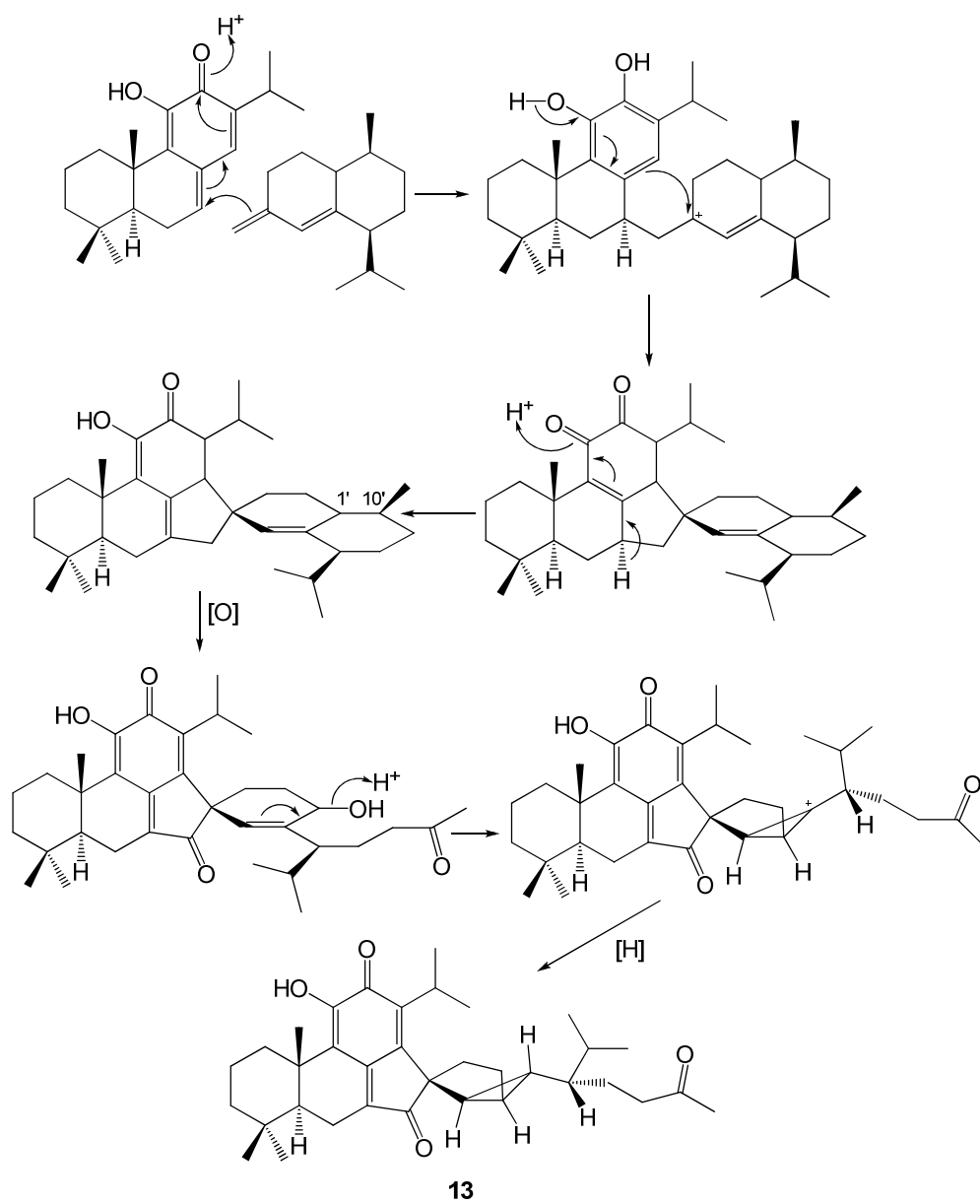
16 $R_1=R_2=R_3=H$
 17 $R_1=OH, R_2=R_3=H$
 18 $R_1=R_2=R_3=H, \Delta^6$
 19 $R_1=H, R_2=OH, R_3=Me, \Delta^6$



Scheme 1



Scheme 2



國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文：已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利：已獲得 申請中 無

技轉：已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

已發表 2 篇論文分別是：

1. Wu, J. H., Y. F. Chang, Y. T. Tung, M. Tsuzuki, A. Izuka, S. Y. Wang, and **Y. H. Kuo**,* 2010. Two Novel 15(10→1)Abeomurolane Sesquiterpenes from *Cosmos sulphureus*, *Helv. Chim. Acta.*, **93**, 753-756.
2. Chen, C. C., J. H. Wu, N. S. Yang, J. Y. Chang, C. C. Kuo, S. Y. Wang, and **Y. H. Kuo**,* 2010. Cytotoxic C₃₅ Terpenoid Cryptotriene from the Bark of *Cryptomeria japonica*, *Org. Lett.*, **12**, 2786-2789.

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

1. 黃花波斯菊的研究，發表在 SCI 之瑞士期刊 *Helv. Chim. Acta.*，確認 2 種新骨架倍半萜及一種具抗癌活性化合物，這 2 種新骨架化合物在學術成果上極有價值。

2. C₃₅ terpeney 在天然物很稀少，萜類有單萜、倍半萜、雙萜、三萜，但三倍半萜之希臘字不知如何書寫，此三倍半萜在 3-4 年前才首次發現，此次由柳杉皮找出有抗癌活性且三倍半萜結構複雜，所以在 *Org. Lett.* 發表，此期刊之 IF value 為 5.4，單就有機化學期刊它是最高點數，此成果有學術及應用的價值。

第 42 屆純化學及應用化學(IUPAC)研討會

郭悅雄教授 中國醫藥大學 中國藥物研究所

開會時間：8 月 2-7 日，2009

地點：Glasgow 英國

NSC 98-2113-M-039-002

一、參加會議

IUPAC 是 International Union of Pure and Applied Chemistry 的縮寫，很多化學物的名稱，除了它的 common name 以外，正式名稱叫 IUPAC name，他是純化學與應用化學之國際聯盟，它二年開一次會，有時與其他學會共同舉行，有時是單獨自己舉行，早期四次 1909、1947、1963 及 1985 都在英格蘭舉行。而此次大會選在 Scotland 之 Glasgow 進行，Glasgow 是屬於蘇格蘭與英格蘭交接地，是以往二民族鬪事之地，還有古時的城牆，Glasgow 有現代化之都市，也有許多古蹟可敘述著早期蘇格蘭與英格蘭二民族之爭。

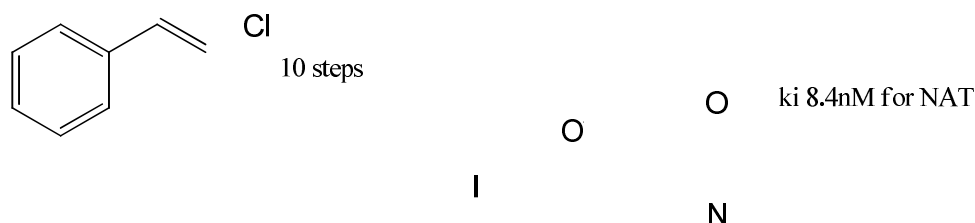
此次大會在 SECC(Scottish Exhibition and Conference Center)之展示場舉行，場地非常廣大，大會前後為期舉行 6 天，由 8 月 2 日起到 8 月 7 日止，2 日是 Registration 晚上有 Welcome drinks reception。IUPAC 之會議有很多種類，此次會議是 Chemistry solution，分有

1. Analysis & Detection、2. Chemistry for Health、3. Communication & Education、4. Energy & Environment、5. Industry & Innovation、6. Materials、7. Synthesis & Mechanism，大會有 Keynote speech、Award winner speech 以及邀請演講，而參加人員超過 1 千人是很大的盛會。

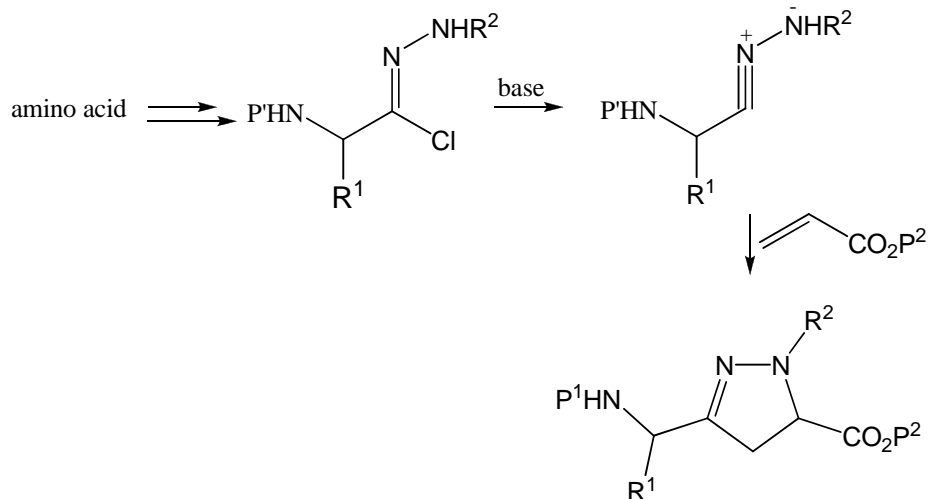
二、與會心得

我們參加的 Chemistry for Health 主要內容有 Bioinorganic Toxicity、Poison or Cure、Chemistry for solving Biological problems、Chemistry in the Food chain and Health、Chemistry of the Cell、DNA-based Electrochemical Devices and Biosensors、Heterocyclic Chemistry、Synthesis、Chemical Biology and Drug discovery。

Prof. Andrew Sutherland 他利用 iodoreboxetine analogues 使用 Sharpless methodology 完成 noradrenaline transporter(NAT)化合物合成：



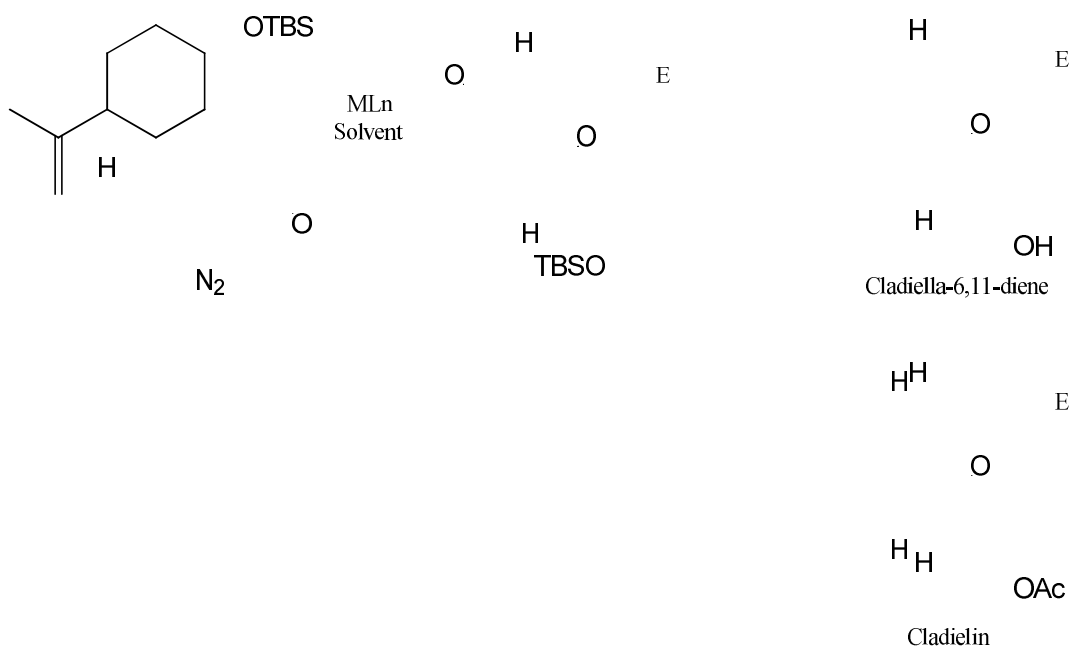
Prof. C. F. Jones 由 amino acid 經由 1,3-dipolar cycloaddition 去合成 Novel pyrazoline：

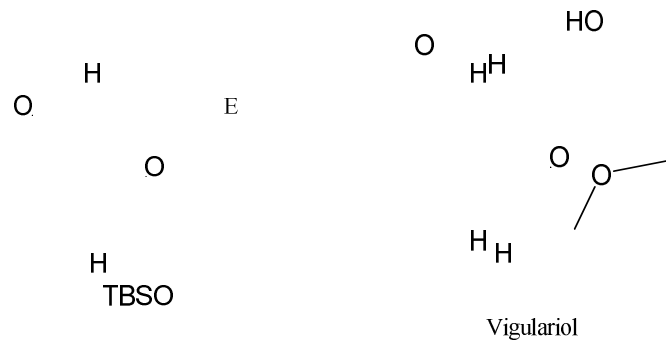


Prof. T. Phillips 由 C-Tryptophan 經 15 steps 去合成 indole alkaloid, (+)-Ajmaline。

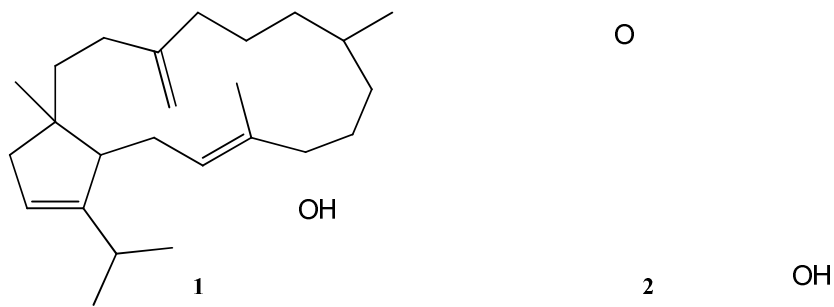
Prof. J. Westwood 發表分離出一種強的 NF- κ B 抑制劑叫 *iso-seco-tanaparholides*，然後作全合成，合成其 6 種衍生物，檢討其 biological 活性強弱，並探討其生合成途徑是由 *santanin* 來的。

Prof. J. S. Clark 提出有生理活性之 ether bridged marine diterpene 的全合成法，途徑如下：





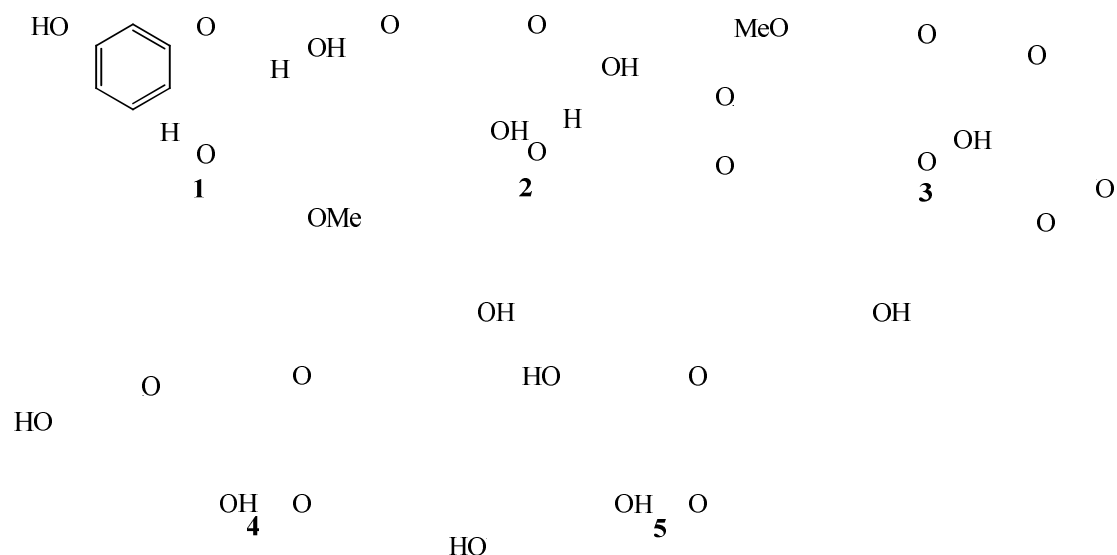
Dr. M. O. Fatope 由 *Fusarium proliferatum* 之液態發酵之 mycelium 分出二種新骨架化合物，尤其是 comp. 2 已具有 antibacterial 對 *Corynebacterium diphtheria*、*E. coli*、*Streptococcus diphthecra* 有抑制，其 MIC 在 $15.6 \mu\text{g ml}^{-1}$ 。



Dr. I. B. Turkyilmaz 做 rat 的動物實驗，以 Vit. C、Vit. E、 β -Carotene 及 Se 去做由 indomethacin 所引起胃傷害的保護作用。

Clostridium difficile 在英國醫院感染的一種細菌，對許多抗生素有抗拒作用，Dr. W. Fraser 利用 aralkylpyrimidinetrione 三種衍生物來對抗 *C. difficile*。

著者此次提出的內容是由 *Derris laxiflora* Benth. 分出 5 種新化合物 3 種是 new pterocarpan, 1, 2, 3 和 2 種 flavones，此 5 種化合物具有抗發炎的特性。



由國內到此參加會議的研究人員亦有不少的人數。中國醫的郭盛助教授，他合成類似抗癌物 YC-1 之化合物叫 1-benzyl-3-(5-hydroxy-methyl-2-furyl)selenolo[3,2]pyrazole 對 NC1-H226 等 cancer cell lines 有強的抑制生長能力。

中央研究院來的蘇燦隆教授也是報告 DNA-alkylation 之抗癌藥物之合成，它是 1,2-bis(hydroxyl-methyl)-3a-aza-cyclopenta[a]-indenes 骨架之衍生物。

雲林科大的郭賓崇教授發表是由 *Stellaria dichatoma* 分出 13 種新的 β -carboline 之化合物。成大的吳天賞教授提出二題，一題為抗發炎的 β -carboline 之衍生物之全合成；另一題是由 *Rennellia elliptica* 分出二種新的 anthraquinones。

長庚大學呂教授提出由 *Lobelia chinensis* 可分出 45 種化合物含 flavones、coumarrins、pyrrole、polyacetylene、triterpene 及 benzenoids。

高醫的陳益昇教授提出三個研究報告：1.從 *Magnolia kachirachiraii* 分出 1 種新化合物及 49 種已知化合物，而 costunolide 及 dehydrosaussurea lactone 具有細胞毒；2.從 *Fatoua pilosa* 找出 10 種新 coumarin 類化合物及 18 種已知化合物，其中 18 種具抗肺結核的活性；3.由 *Antidesma hiiranense* 找出 2 種新的 coumarin 以及 19 種已知化合物。

中國醫大的陳昱璋從 *Antidesma japonienn* 分出 1 種新的 benzopyranone 及 6 種其他已知化合物。

三、建議

一種國際性會議是集合世界先進國家之工作發表會，可了解最新研究的動向與情報，要鼓勵國內學者多參與國際性研討會，可快速獲得最新有關自己研究的資料，建議國內各有關單位如想獲得國外學者智慧結晶，則多舉辦一些不需要很大的國際會議，可提升自己些研究的水準。

四、攜回資料

42nd IUPAC Congress, Chemistry solution 之 programme 及 Abstracts

無研發成果推廣資料

98 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：郭悅雄		計畫編號：98-2113-M-039-002-					
計畫名稱：本土植物之活性成分探索							
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%		
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力 （本國籍）	碩士生	3	3	100%	人次	
		博士生	2	2	100%		
		博士後研究員	1	1	100%		
		專任助理	0	0	100%		
國外	論文著作	期刊論文	21	21	100%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	100%		
		研討會論文	0	0	100%		
		專書	0	0	100%	章/本	
	專利	申請中件數	0	0	100%	件	
		已獲得件數	0	0	100%		
	技術移轉	件數	0	0	100%	件	
		權利金	0	0	100%	千元	
	參與計畫人力 （外國籍）	碩士生	0	0	100%	人次	
		博士生	0	0	100%		
		博士後研究員	0	0	100%		
		專任助理	0	0	100%		

<p style="text-align: center;">其他成果</p> <p>(無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	無
---	---

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

國科會補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

1. Y. H. Kuo, * 2010, *Helv. Chim. Acta.*, 93, 753-756

2. Y. H. Kuo, * 2010, *Org. Lett.*, 12, 2786-2789

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

1. 黃花波斯菊的研究，發表在 SCI 之瑞士期刊 *Helv. Chim. Acta.*，確認 2 種新骨架倍半萜及一種具抗癌活性化合物，這 2 種新骨架化合物在學術成果上極有價值。

2. C35 terpeney 在天然物很稀少，萜類有單萜、倍半萜、雙萜、三萜，但三倍半萜之希臘字不知如何書寫，此三倍半萜在 3-4 年前才首次發現，此次由柳杉皮找出有抗癌活性且三倍半萜結構複雜，所以在 *Org. Lett.* 發表，此期刊之 IF value 為 5.4，單就有機化學期刊它是最高點數，此成果有學術及應用的價值。