

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 崗脂麻及七日暈活性成分之研究

### Studies on the Active Constituents of *Helicteres angustifolia* L. and *Breynia officinalis* Hemsley

計畫編號：NSC 87-2314-B-039-003

執行期限：86年8月1日至87年7月31日

主持人：張永勳 中國醫藥學院藥學系

#### 一、中文摘要

崗脂麻 (*Helicteres angustifolia* L.) 為梧桐科 (Sterculiaceae) 植物，具解毒、消炎、止痛、抗菌、抗癌等作用。在臺灣市場品中，亦被當山豆根之代用品來使用<sup>[1-3]</sup>。

崗脂麻根及莖之甲醇粗抽物以正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯及正丁醇等不同溶媒分配萃取後，以細胞毒性試驗為指標，活性引導分離得到 betulin 1, betulin acid 2, betulinic acid methyl ester 3,  $\beta$ -sitosterol 4, oleanolic acid 5, 3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester (methyl helicterate) 6, 3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid 7 and 3 $\beta$ -acetoxy-27-(p-hydroxyl)-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester 8 等化合物。藥理活性方面，以正己烷層 (He-H)、二氯甲烷層 (He-C)、乙酸乙酯層 (He-E)、正丁醇層 (He-B) 對人類肺癌細胞 (A-549)、人類腸癌細胞 (HT-29)、人類喉癌細胞 (KB-16) 及老鼠血癌細胞 (P-388) 等具有顯著之細胞毒性。

七日暈 (*Breynia officinalis* Hemsley) 為一民間襲用藥材，用於治療梅毒、腫毒、跌打損傷、皮膚病、急性胃腸炎<sup>[4]</sup>。

由七日暈根部、莖部甲醇抽出物，經分離及鑑定得到六種成分，分別為 n-tetratriacontane 9, phytosterol 10, friedelin 11, 19 $\beta$ -isopropyl-lupan-9(II)-en-3 $\beta$ -acetate 12, 1 $\beta$ -hydroxy-lupan-20(29)-en-3-one 13, lup-1(2),20(29)-dien-3-one 14; 其中 11, 12, 13 與 14 在本屬植物為首次發現之成分。藥理活性方面，急性毒性試驗顯示根的毒性最大，莖次之，葉最小；細胞毒性試驗顯示

對於人類喉癌細胞 (KB-16) 及老鼠血癌細胞 (P-388) 則無抑制活性。

關鍵詞：崗脂麻、七日暈、細胞毒性試驗。

#### Abstract

*Helicteres angustifolia* L. (Sterculiaceae) is one of the substitutions or adulterations of Shan-Don-Gen on the market in Taiwan. It possesses antidotal, analgesic, anti-inflammatory and antibacteria effects, and also known as a kind of tumor inhibitory plant.

In the pharmacological test, the n-hexane layer, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> layer, EtOAc layer and n-BuOH layer of methanol extract from the stem and root of this plant were found to have potent cytotoxic activity respectively. Bioactivity-guided fractionation and separation led to the isolation of betulin 1, betulin acid 2, betulinic acid methyl ester 3,  $\beta$ -sitosterol 4, oleanolic acid 5, 3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester (methyl helicterate) 6, 3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid 7 and 3 $\beta$ -acetoxy-27-(p-hydroxyl)-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester 8. These compounds were identified by means of spectroscopic method.

*Breynia officinalis* Hemsley is a plant of the Euphorbiaceae family. The whole herb is a folk drug in Taiwan for the treatment of syphilis, acute gastroenteritis and wounds.

The methanolic extract of the stem and root was partitioned and separated by chromatographic methods. Six compounds were isolated. By analyzing their physical, chemical and spectral data and by comparison with corresponding authentic samples, the

compounds were identified as n-tetratriacontane **9**, phytosterol **10**, friedelin **11**, 19 $\beta$ -isopropyl-lupan-9(11)-en-3 $\beta$ -acetate **12**, 1 $\beta$ -hydroxy-lupan-20(29)-en-3-one **13**, lup-1(2),20(29)-dien-3-one **14**; Among these compounds, 11, 12, 13 and 14 were isolated from *Breynia* genus for the first time.

**Keywords:** *Helicteres angustifolia*, *Breynia officinalis*, cytotoxic activity.

## 二、緣由與目的

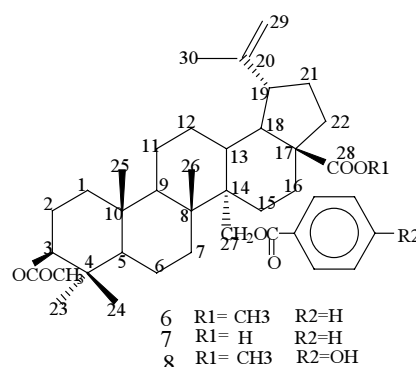
根據目前本研究室所作一系列臺灣市售易誤用、混用中藥品種中發現梧桐科 (Sterculiaceae) 植物崗脂麻 (*Helicteres angustifolia* L.) 亦被當山豆根來使用。崗脂麻始載於藥性本草，自清代即為廣東涼茶的主要原料，大陸稱為山芝麻，具有清熱解毒功能，用於感冒發熱、扁桃腺炎、咽喉炎、腮腺炎、皮膚濕疹、痔瘡<sup>[5]</sup>。生於平野山麓、丘陵之耕餘地，荒地草叢、路旁、墓地內多見，屬於小灌木<sup>[6,7]</sup>。在細胞毒性試驗中，崗脂麻抽出物活性非常強，此結果顯示本植物具有研究發展的潛力，值得進一步進行分離<sup>[8-11]</sup>，找出具有高度藥理活性之成分。

七日暈(*Breynia officinalis* Hemsley) 為臺灣本產大戟科 (Euphorbiaceae) 山漆莖屬(*Breynia*)植物。自生於全省低海拔或叢林之半落葉灌木，春季開單性花，雌雄同株，夏秋之際是果實成熟期，結紅色扁球狀漿果。臺灣的山漆莖屬植物只有一種及一變種，民間用全株治療梅毒、腫毒、跌打損傷、皮膚病、濕疹、急性胃腸炎<sup>[12]</sup>。排灣族原住民用樹皮與檳榔共嚼，充嗜好品。全草劇毒，據云中毒會昏暈七日，故有「七日暈」之名。

對於本屬植物的化學成分與藥理作用雖已有不少的研究，但關於七日暈這個植物的化學成分與藥理作用的研究卻極為有限<sup>[13]</sup>，故引發對七日暈這個民間藥作進一步的植物化學之研究。

## 三、結果與討論

崗脂麻根及莖之甲醇粗抽物以正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯及正丁醇等不同溶媒分別萃取後，以細胞毒性試驗為指標，活性引導分離得到 betulin **1**, betulin acid **2**, betulinic acid methyl ester **3**,  $\beta$ -sitosterol **4**, oleanolic acid **5**, 3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester (methyl helicterate) **6**, 3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid **7** and 3 $\beta$ -acetoxy-27-(p-hydroxyl)-benzoyl



oxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester **8** 等化合物。

3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester (methyl helicterate) **6** (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>6</sub>)

化合物**6**以二氯乙烷-甲醇再結晶，得無色針晶。m.p. 196~197 °C。Mass圖譜 M<sup>+</sup>(m/z)顯示：Molecular ion peak為632 (M<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR( $\delta$ ,ppm)圖譜顯示：0.77, 0.80, 0.93, 0.98分別為4個四級碳上甲基之質子訊號, 1.68(3H, s, H-30), 1.99(3H, s, 3-OCOCH<sub>3</sub>), 2.99(1H, m, H-19), 3.65(3H, s, 17-COOCH<sub>3</sub>), 4.60~4.30 (3H, m, H-27A, 27B, 3), 4.78 and 4.60(each 1H, s, H-29), 7.45 (3H, m, H-3',4',5'), 7.98(2H, dd, J=7.5, 2.5 Hz, H-2',6'); <sup>13</sup>C NMR( $\delta$ ,ppm)及DEPT圖譜顯示：38.46(t, C-1), 23.63(t, C-2), 80.64(d, C-3), 37.78(s, C-4), 55.50(d, C-5), 18.12(t, C-6), 35.27(t, C-7), 41.48(s, C-8), 51.96(d, C-9), 37.39(s, C-10), 21.05(t, C-11), 25.24(t, C-12), 39.03(d, C-13), 45.66(s, C-14), 24.22(t, C-15), 32.48(t, C-16),

56.29(s, C-17), 49.76(d, C-18), 46.83(d, C-19), 150.07(s, C-20), 30.38(t, C-21), 36.53(t, C-22), 27.83(q, C-23), 16.68(q, C-24), 16.53(q, C-25), 16.34(q, C-26), 63.64(t, C-27), 176.57(s, C-28), 109.96(t, C-29), 19.41(q, C-30), 170.80(s, 3-OCOCH<sub>3</sub>), 23.63(q, 3-OCOCH<sub>3</sub>), 51.33(q, 17-OCOCH<sub>3</sub>), 166.52(s, 14-CH<sub>2</sub>OCOPh), 130.57(s, C-1'), 129.42(d, C-2',6'), 128.45(d, C-3',5'), 132.89(d, C-4')。HMQC圖譜顯示各<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C相鄰位置之偶合關係。HMBC圖譜由4.45(H-3 $\alpha$ )和170.80(3-OCOCH<sub>3</sub>)之偶合關係確認3-OAc位置；H-27A, 27B和45.66(C-14)及166.52(14-CH<sub>2</sub>OCOPh)之偶合關係確認14-CH<sub>2</sub>OCOPh位置；3.65(17-COOCH<sub>3</sub>)和176.57(C-28)。由以上光譜資料與文獻<sup>[8]</sup>比對，推論其結構為3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester (methyl helicterate)。

3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid **7** (C<sub>39</sub>H<sub>54</sub>O<sub>6</sub>)

化合物**7**以二氯乙烷-甲醇再結晶，得無色針晶。m.p. >300 °C。Ms圖譜M<sup>+</sup>(m/z)顯示：Molecular ion peak為618 (M<sup>+</sup>)。與化合物**6**比較，氫譜失去3.65(17-COOCH<sub>3</sub>)峰，碳譜失去51.33(17-OCOCH<sub>3</sub>)峰，其餘位置與化合物**6**相近，由以上光譜證據，推論其結構為3 $\beta$ -acetoxy-27-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid。

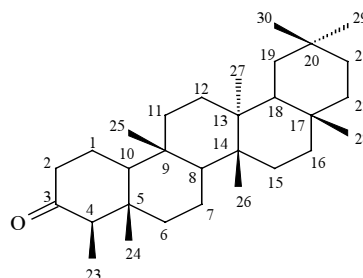
3 $\beta$ -acetoxy-27-(p-hydroxyl)-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester **8** (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>7</sub>)

化合物**8**以二氯乙烷-甲醇再結晶，得無色針晶。m.p. >300 °C。Ms圖譜M<sup>+</sup>(m/z)顯示：Molecular ion peak為648 (M<sup>+</sup>)。與化合物**6**比較，氫譜出現6.85(2H, d, J=8.0 Hz, H-3',5'), 7.85(2H, d, J=8.0 Hz, H-2',6')之A<sub>2</sub>X<sub>2</sub> type，顯示苯環上之對位OH取代，其餘位置與化合物**6**相近，由以上光譜證據，推論其結構為3 $\beta$ -acetoxy-27-(p-hydroxyl)-benzoyloxylup-20(29)en-28-oic acid methyl ester。

藥理活性方面，以正己烷層(He-H)、二氯甲烷層(He-C)、乙酸乙酯層(He-E)、正丁醇層(He-B)對人類肺癌細胞(A-549)、人類腸癌細胞(HT-29)、人類喉癌細胞(KB-16)及老鼠血癌細胞(P-388)等具有顯著之細胞毒性。

七日暈根部、莖部甲醇抽出物，經分離及鑑定得到六種成分，分別為n-tetratriacontane **9**, phytosterol **10**, friedelin **11**, 19 $\beta$ -isopropyl-lupan-9(II)-en-3 $\beta$ -acetate **12**, 1 $\beta$ -hydroxy-lupan-20(29)-en-3-one **13**, lup-1(2),20(29)-dien-3-one **14**；其中**11**, **12**, **13**與**14**在本屬植物為首次發現之成分。藥理活性方面，急性毒性試驗顯示根的毒性最大，莖次之，葉最小；其半致死劑量(LD<sub>50</sub>)，莖及根分別為1.80 g/kg及0.485 g/kg而葉給予10 g/kg時，尚未見死亡。細胞毒性試驗顯示對於人類喉癌細胞(KB-16)及老鼠血癌細胞(P-388)則無抑制活性。

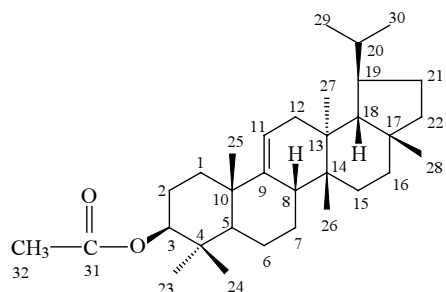
化合物**11** friedelin (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O)



化合物**11**以正己烷-乙醚再結晶，得無色針晶，m.p. 186.8~187.3 °C。Mass圖譜M<sup>+</sup>(m/z)顯示：Molecular ion peak為426 (M<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR圖譜顯示：0.72, 0.87, 0.89, 0.95, 1.00, 1.01, 1.05, 1.18 (s) ppm分別為八個四級碳上甲基之質子訊號。<sup>13</sup>C NMR圖譜顯示：213ppm為帶有=O基的C-3之碳原子訊號；其它訊號均與文獻<sup>[34]</sup>相似。DEPT圖譜顯示：8個CH<sub>3</sub>的訊，11個為CH<sub>2</sub>的訊號，4個為CH的訊號。由以上光譜資料與文獻<sup>[13]</sup>比對，推論其結構為friedelin。

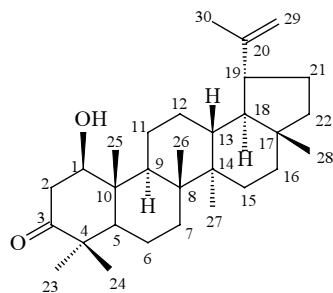
化合物 **12** 19  $\beta$ -isopropyl-lupan-9(11)-en-3  $\beta$ -acetate (C<sub>32</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub>)

化合物 **12** 以正己烷-氯仿再結晶，得無色針晶，m.p. 213.8~215.0 °C。Mass 圖譜 M<sup>+</sup>(m/z)顯示：Molecular ion peak 為 468 (M<sup>+</sup>)，<sup>1</sup>H NMR 圖譜顯示：5.22 ppm (1H，



dt, H-11) ; 4.48 ppm (1H, dd, J=4.2, 3.9Hz, H-3  $\alpha$ ) ; 2.05 (3H, s) ppm 則為 -OAc 基上H-32之甲基質子訊號，1.58 ppm (1H, s, H-18  $\alpha$ )，1.05 (3H, s, H-25)，0.89、0.86、0.84、0.81、0.80、0.76、0.75 (s)ppm 共有21個質子分別為七個四級碳上甲基之質子訊號。<sup>13</sup>C NMR圖譜顯示：171.07 ppm為 -OAc 基上 C-31 之碳原子訊號；148.50、114.56 ppm分別顯示為環雙鍵 C-9、C-11 之碳原子訊號；80.88 ppm 則為帶有 -OAc 基的 C-3 之碳原子訊號；其它訊號與文獻<sup>(35)(36)</sup>相似。DEPT圖譜顯示：8個CH<sub>3</sub>的訊號；9個CH<sub>2</sub>的訊號；7個CH的訊號。由以上光譜資料與文獻比對<sup>[14,15]</sup>，推論其結構為 19  $\beta$ -isopropyl-lupan-9(11)-en-3  $\beta$ -acetate。

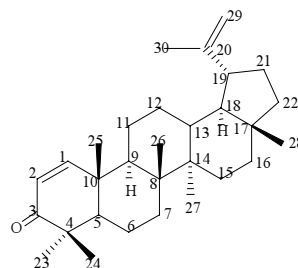
化 合 物 **13** 1  $\beta$ -hydroxy-lupan-20(29)-en-3-one (C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>)



化合物**13**以氯仿-甲醇再結晶，得無色片狀結晶，m.p. 190.3~192.7 °C。Mass 圖譜M<sup>+</sup>(m/z)顯示：Molecular ion peak為440

(M<sup>+</sup>)，<sup>1</sup>H NMR圖譜顯示：4.61、4.49 ppm (2H, d, J=2.1 & 3 Hz, H-29) ; 3.83 ppm (1H, dd, J=9 & 3 Hz, H-1) ; 2.94 ppm (1H, dd, J=14.28 & 8.1 Hz, H-2  $\beta$ ) ; 2.32 ppm(1H, m, H-19  $\beta$ ) ; 2.15 ppm(1H, dd, J=14.4 & 3.3 Hz, H-2  $\alpha$ ) ; 1.61, 0.99, 0.97, 0.91, 0.76, 0.73 (s) ppm 分別為六個四級碳上甲基之質子訊號。<sup>13</sup>C NMR圖譜顯示：216.16 ppm為接有 =O 基的 C-3 之碳原子訊號；150.79、109.50 ppm分別顯示為環外雙鍵C-20、C-29 之碳原子訊號；79.58 ppm顯示為接有 -OH 基的 C-1之碳原子訊號。DEPT圖譜顯示7個CH<sub>3</sub>的訊號；10個 CH<sub>2</sub>的訊號；6個CH的訊號。2D <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY圖譜顯示：3.83 ppm(H-1)與2.94 ppm (H-2  $\beta$ ) 有耦合；3.83 ppm (H-1) 與2.15 ppm (H-2  $\alpha$ ) 有耦合；2.94 ppm (H-2  $\beta$ ) 與2.15 ppm (H-2  $\alpha$ ) 有耦合。2D <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H COSY圖譜顯示：3.83 ppm(H-1)接在79.58 ppm (C-1) 上；2.32 ppm (H-21) 接在48.16 ppm (C-21) 上。

由以上光譜資料與相關文獻<sup>[15-17]</sup>比對，推論其結構為 1  $\beta$ -hydroxy-lupan-20(29)-en-3-one。



化 合 物 **14** lup-1(2),20(29)-dien-3-one (C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O)

<sup>1</sup>H NMR圖譜顯示：7.08 ppm (1H, d, J=6 Hz, H-2) ; 5.76 ppm (1H, d, J=6 Hz, H-1) ; 4.63 ppm(2H, d, J=24 Hz, H-29) ; 2.37 ppm (1H, m, H-19)。<sup>13</sup>C NMR圖譜顯示：205.54 ppm為接有 =O 基的 C-3 之碳原子訊號；159.85、125.13 ppm分別顯示為環雙鍵C-2、C-1 之碳原子訊號；150.74、109.47 ppm分別顯示為環外雙鍵C-20、C-29 之碳原子訊號。DEPT圖譜顯示：為7個CH<sub>3</sub>

的訊號；9個CH<sub>2</sub>的訊號；7個CH的訊號。**14**為**13**之脫水產物，由此結構可證明**13**之OH基接在第一位。由以上光譜資料與相關文獻<sup>[15-17]</sup>比對，推論其結構為lup-1(2),20(29)-dien-3-one。

#### 四、計畫成果自評

本研究由崗脂麻根及莖之甲醇粗抽物分離得到8個化合物，並確認其細胞毒活性劃分。同時本植物仍進行其抗發炎活性及成分篩選。另由七日暈根部、莖部甲醇抽出物，經分離及鑑定得到6種成分，4種為本屬植物為首次發現之成分。達成預期目標。

#### 五、參考文獻

- [1] 蔡敏鈴：臺灣市售山豆根類藥材之生藥學研究，中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文，1996。
- [2] 東丈夫、名越規朗、賴榮祥：臺灣植物藥材之生藥學研究學，中國醫藥學院年報，137-147，1970。
- [3] 賴榮祥：原色生藥學，創譯出版社，臺中市1976；52-56。
- [4] 邱年永、張光雄：原色臺灣藥用植物圖鑑(1)，南天書局有限公司，臺北1995；45。
- [5] 孫桂均：湖南省中藥材標準，湖南科學技術出版社，湖南1993，28-30。
- [6] 邱年永、張光雄：原色臺灣藥用植物圖鑑(1)，南天書局有限公司，臺北1995；104。
- [7] 甘偉松：臺灣藥用植物誌卷上，國立中國醫藥研究所，台北1967，527。
- [8] Liu W.G., Wang M.S. : Structure determination of three new triterpenoids-*Helicteres angustifolia* Linn..*Yao Hsueh Hsueh Pao* 20 (11) : 842-851, 1985.
- [9] Wang M., Liu W. : A naphthoquinone from *Helicteres angustifolia*. *Phytochemistry* 26 (2) : 578-579, 1987.
- [10] Chen C.M., Chen Z.T., Hong, Y.L. : A mansonone from *Helicteres angustifolia*. *Phytochemistry* 29 (3) : 980-982, 1990.
- [11] Chen Z.T., Lee S.W., Chen C.M. : New flavoid glycosides of *Helicteres angustifolia*. *Heterocycles* 38 (6) : 1399-1406, 1994.
- [12] 邱年永、張光雄：原色臺灣藥用植物圖鑑(1)，南天書局有限公司，臺北1995；45。
- [13] 34.Ramaiah PA; Devi PU; Frolov F ; Lavie D: 3-oxo-friedelan-20  $\alpha$  -oic acid from *Gymnosporia emarginata*. *Phytochemistry* 1984, 23; 10: 2251-2255。
- [14] 35.Reiko Tanaka; Tomoko Ida; Shunji Kita; Wasuke Kamisako; Shunyo Matsunaga: A 3,4-Seco-8  $\beta$  H-Fernadienoic Acid and other Constituents from *Euphorbia chamaesyce*. *Phytochemistry* 1996, 41; 4: 1163-1168。
- [15] 36.Kenji Shiojima; Hideki Suzuki; Nobuyuki Kodera; Hiroyuki Ageta; Hsien-Chang Chang; Yuh-pan Chen: Composite Constituents: Thirty-Nine Triterpenoids Including Two Novel Compounds from *Ixeris chinensis*. *Chem. Pharm. Bull.* 1996, 44 (3) 509-514。
- [16] 37.Giuseppe Savona; Maurizio Bruno; Benjamin Rodriguez; Jose L. Marco: Triterpenoids from *Salvia deserta*. *Phytochemistry* 1987, 26; 12: 3305-3308。
- [17] 38.Hiroyuki Ageta; Kenji Shiojima; Hideki Suzuki; Sachiko Nakamura: NMR Spectra of Triterpenoids. I. Conformation of the Side Chain of Hopane and Isohopane, and Their Derivatives. *Chem. Pharm.Bull.* 1993, 41 (11) 1939-1943。