

魚針草內酯(Ovatodiolide)之萃取和分離純化與光譜鑑定

王安宸、曾德毓、李建明*

國立臺東大學應用科學系

摘要

本篇利用浸泡方式從天然草本植物-魚針草 (*Anisomeles indica*) 葉片中萃取多種具有生物活性之化合物，透過濃縮、管柱層析法和擴散長晶純化方式，成功獲得高純度和高產率的魚針草內酯 (ovatodiolide)，魚針草內酯為一種大環二萜類之化合物並被證實特定癌症疾病具治療和預防的潛力。在分離純化上，我們簡化了層析管柱的填充量來達到綠色化學的要求，雖然分離效果無法得到單一產物，但利用溶解度不同的特性，經由再次擴散長晶，與文獻中的數據比較依然可獲得高純度和高產率的目標物。同時，透過各式光譜的量測例如，NMR、FT-IR 和 GC-MS，確認產物為魚針草內酯的成分。最後，經由 X-ray 單晶繞射實驗更加證實魚針草內酯的立體結構。

關鍵字：魚針草內酯、管柱層析法、天然物分離與鑑定

Isolation and Characterization of Ovatodiolide from *Anisomeles indica*

An-Chen Wang, Deyue Robert Tzeng, Chien-Ming Lee*

Department of Applied Science, National Taitung University.

Abstract

Ovatodiolide, a macrocyclic diterpenoid compound, can be obtained from the leaves of the natural herb *Anisomeles indica*. In biological system, ovatodiolide can express a variety of activities and has also been proven to have the function upon treatment with certain cancer cell. In this report, the ovatodiolide were isolated according to published procedures with some modifications, especially at the step of preparation of chromatography column. For example, we reduced the amount of Al_2O_3 in preparation of chromatographic column. The advantage is that we can reduce the amount of the elute solvent to meet the requirements of green chemistry; the disadvantage is that we still obtain mixture compounds after the step of column chromatography. Although we do not obtain a single product, we observe that diffusion of n-hexane into a THF solution of mixture leads to colorless crystals of ovatodiolide with high yield. The $^1H/^{13}C$ NMR, FTIR and Mass spectroscopic studies confirmed the composition of ovatodiolide. The geometric structure of ovatodiolide was also determined by single-crystal X-ray diffraction. The compound, ovatodiolide crystallizes in crystal system, *rr*thorhombic; space group, $P2_12_12_1$; unit cell dimensions, $a = 10.7714(3)$, $b = 12.8674(3)$, $c = 13.0829(3)$ Å; final R indices [$I > 2\sigma(I)$], $R1 = 0.0343$, $wR2 = 0.0936$.

Keywords: ovatodiolide, chromatography, isolation and characterization of natural product

王安宸，國立臺東大學應用科學系學生。E-mail：sjcom09@gmail.com

曾德毓，凱耀投資股份有限公司。E-mail：rdytzeng@gmail.com

李建明 (通訊作者)，國立臺東大學應用科學系教授。E-mail：cmlce@nttu.edu.tw

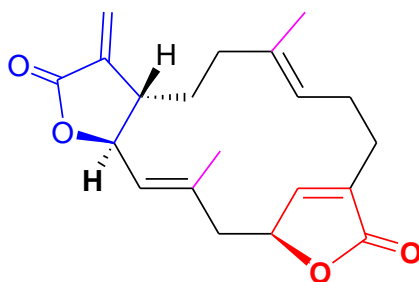
壹、前言

自然界中蘊藏大量且具生物活性的小分子化合物。例如:中草藥常用於治療或減緩各種類型的疾病。透過化學方法的萃取、分離、純化和光譜的量測,可讓具有特殊療效之中草藥的有效成分被鑑定出來。若所使用的化學方法能符合綠色化學的要求,又可在資源使用與環保議題上做出貢獻。

天然草本植物-魚針草(*Anisomeles indica*) 全株熬煮成中藥湯具有解熱、抗菌、治療感冒、腹痛嘔吐和抗發炎等功效(Yeh & Tzeng, 2008)。全株萃取物中認為大環二萜類魚針草內酯(ovatodiolide) 為主要的生物活性分子。文獻上已記載大環二萜類魚針草內酯的分離、純化和結構鑑定。在生物活性的測定上,魚針草內酯已被證實具有抑制癌細胞增長的功效。因此,最近這幾年合成的化學家嘗試利用全合成方式來製備魚針草內酯。在一次機緣下,經由曾耀銘教授介紹,我們實驗室有機會接觸魚針草。在曾教授的幫忙下,從魚針草的栽種、採收、烘乾、萃取、分離純化和光譜鑑定,我們實驗室建立了一個完整的前端流程,獲得高產率和高純度的魚針草內酯,讓後端的生物活性測試能無後顧之憂的進行。尤其在分離純化階段,配合實驗室已建立的擴散長晶技術,非常適合運用在生物活性分子魚針草內酯純化上。

貳、文獻回顧

之前研究顯示魚針草已被用作抗炎藥、抗血小板凝集、降血壓和抗 HIV 病毒活性。近幾年發現是具潛力的抗癌藥物,尤其發生在肝臟的疾病。因此對魚針草內酯(ovatodiolide) 關注持續增加。魚針草內酯的結構上具有獨特的三個環(圖一),環的數目分別為 5, 14 和 5。其中一個五環片段分子為丁烯內酯(butenolide),另一個五環片段分子為反式 α -亞甲基- γ -內酯(*trans* - α -methylene- γ -lactone)。另外,主架構十四環狀分子為大環二萜類片段分子(macrocyclic diterpenoid)。



圖一、魚針草內酯(ovatodiolide)結構示意圖,其中紅色標示為五環片段分子丁烯內酯(butenolide)、藍色標示為五環片段分子為反式 α -亞甲基- γ -內酯(*trans* - α -methylene- γ -lactone)、黑色標示(含部分藍、紅色標示)為主架構十四環狀分子為二萜類片段分子(macrocyclic diterpenoid)。

由魚針草(*Anisomeles indica*)中萃取、分離純化和光譜鑑定魚針草內酯(ovatodiolide)可追溯到 1977 年(Manchand & Blount, 1977), Manchand 研究團隊從魚針草中萃取、分離和純化得到魚針草內酯的晶體,經由 X-ray 單晶繞射實驗確定了魚針草內酯的結構,同時, Manchand 研究團隊也對魚針草內酯分子進行一些化學反應,例如,在酸性條件下,會導致十四碳環進行開環作用而得到另一個碳雙環系統。或是,可對魚針草內酯內碳雙鍵進行環氧化作用。幾年之後, Nakanish 研究團隊也針對魚針草內酯的萃取、純化和鑑定開發另一個流程(Arisawa, Nimura, Ikeda, Hayashi, N. Morita, Momose, Takeda & Nakanish, 1986), 值得注意的,在分離產物中,除了魚針草內酯為主要產物外,另一成份魚針草酸(anisomelic

acid)含量也很高。利用綠色化學方式對魚針草進行萃取主要是由曾耀銘教授研究團隊所貢獻，利用水作為萃取溶劑，可從魚針草莖部分離純化出魚針草內酯(Yeh & Tzeng, 2008)。並將所得到的魚針草內酯進行肺癌細胞的測試，結果證明刺激細胞內活性氧的產生，引起DNA 損傷，誘導細胞的週期停滯，進而導致細胞凋亡(Yu, Teng, Hung, Cheng, Hsu, Hwang & Tzeng, 2018)。此結果證明魚針草內酯對肺癌的預防和治療具有潛力。在利用全合成技術獲得魚針草內酯方面，Chen研究團隊於2019年利用開環和閉環的合成方法(Xiang, Ding, Li, Zhao, Sun, Wang, Wang & Chen, 2019)，能夠得到一系列魚針草內酯的衍生物，同時配合由魚針草中萃取和分離純化魚針草內酯對肝癌幹細胞(Hepatic Cancer Stem Cells)進行測試，結果證實能有效地降低肝癌幹細胞的數量和腫瘤球形成能力，讓魚針草內酯和其衍生物作為新型抗肝癌藥物有無窮的潛力(Xiang, Zhang, Wang, Li, Li, Wang, Ding, Chen, Sun, Bao, Chen, Li, Wang & Chen, 2020)。隔年，同一研究團隊成功在魚針草內酯的官能基上進行修飾，例如:N-methylpiperazine (NMP)可和魚針草內酯衍 diepoxyovatodiolide 形成錯合物(adduct)，NMP-diepoxyovatodiolide，此錯合物能讓魚針草內酯衍生物在生物體內的環境下能夠穩定持續釋放，並對肝臟相關疾病有顯著的影響。

參、研究動機

研究證實魚針草內酯具多樣的生物活性且能抑制某些特定癌細胞的生長，因此有潛力能發展成為的天然藥物，對疾病或症狀包括:抗癌、抗發炎、抗病毒、抗氧化能力、降血壓、抗幽門螺旋桿菌和抑制 HIV-1 感染的細胞病變等治療的選擇之一。我們發現可透過分離和純化的技術，讓天然物魚針草萃取出之魚針草內酯(ovatodiolide)的產量提高，本報導希望能夠試著找出提高產量與且符合綠色化學之萃取和分離純化方法，並透過各式光譜(NMR, IR, X-ray 單晶繞射,質譜)來鑑定所獲得之魚針草內酯化合物。

肆、材料與方法

一、藥品與溶劑

魚針草(取葉子 45 °C 烘乾 24 小時，產地:花蓮縣玉里鎮，*Anisomeles indica*)，正己烷(n-Hexane，試藥級， C_6H_{14})，丙酮(acetone，試藥級， CH_3COCH_3)，乙酸乙酯(ethyl acetate，試藥級， $CH_3COOCH_2CH_3$)，氧化鋁(Aluminium oxide 90 neutral (activity 1) for 管柱分析， Al_2O_3)，四氫呋喃(Tetrahydrofuran (THF)，試藥級， C_4H_8O)。

二、儀器介紹

1. NMR 核磁共振質譜儀 400-MR DD2
2. 傅立葉轉換紅外線光譜儀(Frontier, FTIR)
3. 單晶 X-ray 光譜儀(Bruker D8 Venture)
4. 減壓濃縮系統
5. 氣相層析質譜儀
6. 電子天平(GF-300)
7. 層析管
8. 溶劑蒸餾系統

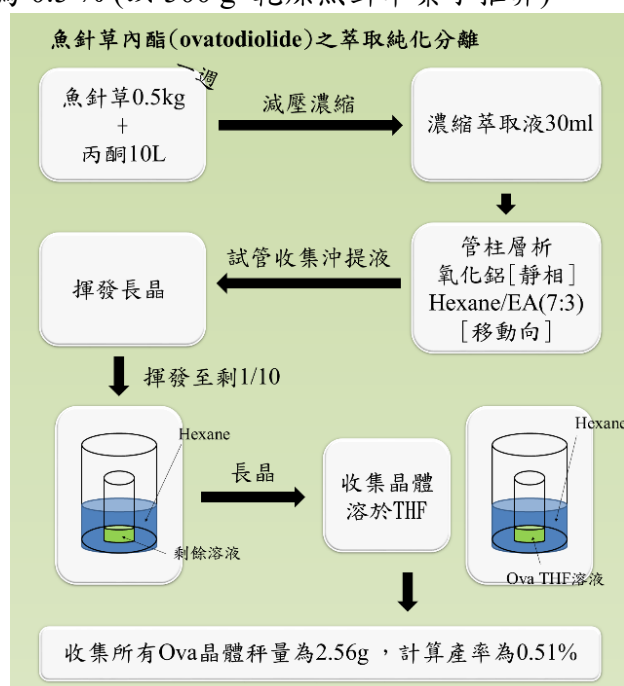
三、魚針草內酯之萃取純化分離

魚針草內酯之萃取和濃縮

取魚針草(一年生、秋季採收、臺灣花蓮縣)葉子部分(800 g)，放入烘箱(45 °C)進行乾燥(24 小時)，可得乾燥魚針草葉子(500 g)。將乾燥之魚針草葉子(500 g)裝入 20 公升桶子(PE 材質)，並加入 10 公升丙酮 or 95 %酒精確保所有葉子均浸泡於溶劑中，之後將桶子密封保存於陰涼處 7 天。7 天之後，將丙酮 or 95 %酒精層與葉子經由過濾分開並透過迴轉式蒸發濃縮機進行濃縮，獲得黃綠色黏稠初萃取物(10 g)。

魚針草內酯純化分離

- (1) 層析管柱製備: 取一內徑(5.2 cm)，長度(35 cm)的玻璃管柱，將約 100g 氧化鋁 (Aluminium oxide 90 neutral, activity 1) 充填入管柱內，高度約為 10cm。先用正己烷潤洗後備用。
- (2) 利用 10 mL 丙酮將黃綠色黏稠初萃取物(10 g)溶解並加到充填好的氧化鋁管柱。溶劑沖提比例先 Hexane : Ethyl acetate/ 100 % : 0 %，逐漸增加極性到 Hexane : Ethyl acetate/ 70 % : 30 %。經由 TLC 的比對，魚針草內酯可於第三個區段流出管柱。利用迴轉式蒸發濃縮機將可揮發物質抽乾。獲得黃綠色固體 3.80 g。
- (3) 將以 THF 回溶黃綠色固體 3.80 g，並使用玻璃過濾器(濾孔:G4)加入一層矽藻土，再加入活性碳，過濾以去除雜質，可將 魚針草 THF 溶液去色。將去色後的 THF 溶液濃縮約 15mL，利用溶劑擴散長晶方式(內杯含 15mL THF 魚針草內酯黃綠色溶液；外杯含 80 mL hexane，如圖二)。經過七天可得淡黃色透明魚針草內酯晶體 2.56 g，產率為 0.5 % (以 500 g 乾燥魚針草葉子推算)。



圖二、魚針草內酯純化分離示意圖。

NMR 光譜樣品製備和量測

取 20 mg 的魚針草內酯(ovatodiolide)裝入直徑為 5 mm 的 NMR 試管，加入 0.7 mL 的氘代氯仿(CDCl₃)，使樣品液面高度距離 NMR 試管底部介於 0.45cm 到 0.5 cm 之間。利用機型 400-MR DD2 核磁共振質譜儀進行量測。氫譜和碳譜均利用四甲基矽烷 (TMS) 作為內標物來校準化學位移。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.59 (s, 3H), 1.62-1.64 (m, 2H), 1.72 (s, 3H), 2.04 (m, 1H), 2.12 (m, 1H), 2.19 (m, 1H), 2.26 (dd, 1H),

2.39 (m, 1H), 2.45 (m, 1H), 2.52 (m, 1H), 2.80 (m, 1H), 2.86 (dd, 1H), 4.81 (m, 1H), 4.85 (bd, 1H), 5.08 (m, 1H), 5.12 (bd, 1H), 5.57 (bs, 1H), 6.12 (bs, 1H), 6.98 (bs, 1H)。¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 15.1, 19.3, 23.7, 24.9, 33.3, 36.3, 40.3, 42.7, 77.9, 78.8, 122.9, 125.0, 129.1, 131.2, 134.3, 134.5, 139.6, 147.4, 170.3, 173.0。

FTIR 光譜樣品製備和量測

取1mg的魚針草內酯固體與溴化鉀(KBr)固體以約1:50比例混合後研磨，並進行壓片，形成薄鹽片後將之轉移到IR固定槽進行光譜掃描。次數為16次，解析度為1 cm⁻¹，量測範圍400到4000 cm⁻¹。FTIR (KBr pellet): 3100, 2900, 1740, 1650, 1430, 1395, 1320, 1200, 1110, 1045, 1080, 980, 960, 930, 910, 880, 860, 820, 750, 625 cm⁻¹。

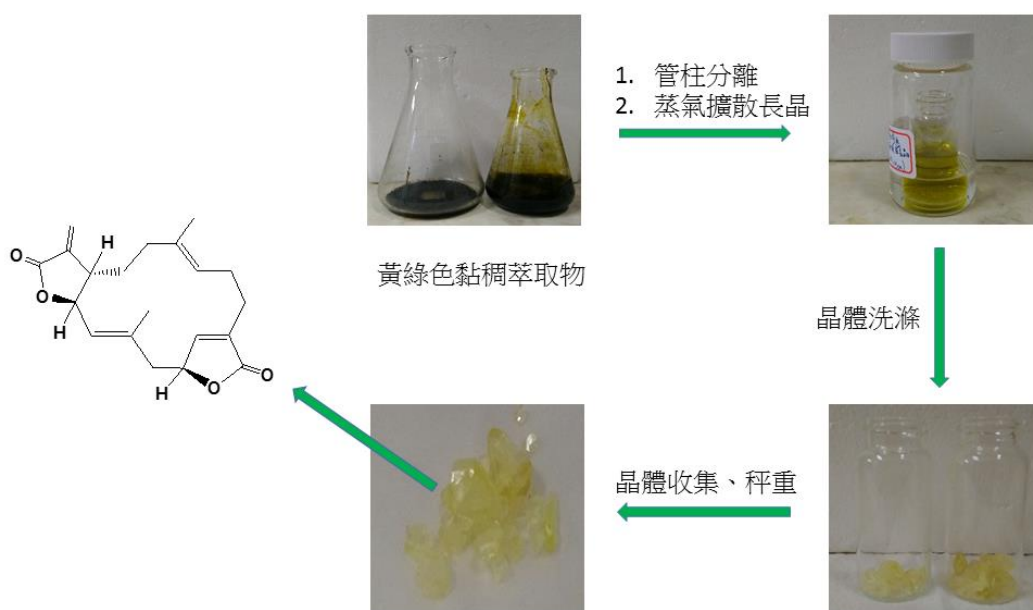
單晶 X-ray 光譜儀(Bruker D8 Venture)量測委託台灣大學貴儀中心

魚針草內酯(ovotodiolide) 晶體參數如下: Orthorhombic, space group P2₁2₁2₁, with a = 10.7714(3), b = 12.8674(3), c = 13.0829(3), V = 1813.29(8) Å³, D (calculated) = 1.203 Mg/m³, Z = 4, Formula weight = 328.39, Goodness-of-fit on F² = 1.056, R indices (all data): R1 = 0.0347, wR2 = 0.0942。

伍、結果與討論

本次研究利用丙酮或乙醇作為萃取溶劑，成功且有效地從乾燥魚針草葉子中萃取出目標物，在經由初步的管柱分離(Al₂O₃)搭配有機蒸氣擴散長晶的方式得到高產率和高純度的魚針草內酯(ovotodiolide)，如圖三所示。在管柱分離方面，為了減少沖提展開液的用量，讓純化過程更靠近綠色化學，有別於文獻報導，本次實驗氧化鋁(Al₂O₃)的填充量是文獻報導中的三分之一，因為氧化鋁用量的減少，沖提展開液的用量也相對應的減少(Hexane : Ethyl acetate/ 70% : 30%，總用量約 200 mL) 且分離的時間也大大的縮短(45 分內完成)。實驗過程中的確發現，較少量的氧化鋁填充量對於魚針草內酯的分離純化有顯著的影響，經由 TLC 片的鑑定，本次所使用的管柱分離法，除了目標物魚針草內酯外，溶液中還至少含有三到五種的化合物。一般來說，此溶液還是混合液。然而，我們嘗試擴散長晶純化的方法在對此混合液再進行純化，發現以 10mL THF 回溶黃綠色固體 1.23 g，利用溶劑擴散長晶方式，內杯含 10mL THF 魚針草內酯黃綠色溶液，外杯含 60 mL n-hexane。放置室溫下，經過七天可得淡黃色透明魚針草內酯晶體，產率為 0.5% (以乾燥魚針草葉子推算)。以 1000 g 乾燥魚針草葉子來看，此方法可純化得到 5.0 g 的魚針草內酯晶體。

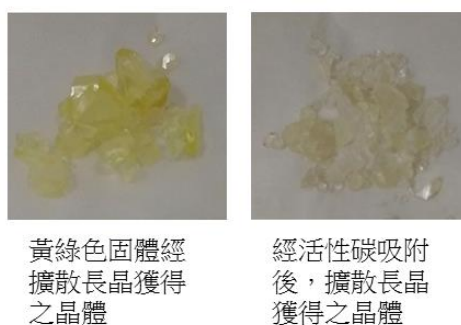
為了獲得較佳產率，我們針對溶劑擴散長晶的溶劑種類、溶劑比例和長晶溫度做了一些改變，如表一所示。當溶劑種類使用 THF 和 n-hexane 搭配和體積比例為 1:10，在室溫條件下擴散長晶五天會獲得最高產率的魚針草內酯的晶體。若相同的條件下，改變長晶溫度到-10°C，獲得的晶體產率則會下降，可能的原因是低溫影響 n-hexane 擴散的速度，讓 THF 溶液極性改變有限，大部分的魚針草內酯還溶解在 THF 溶劑中，造成晶體產率下降。解決的方式是拉長低溫條件下的長晶時間，實驗發現，晶體產率有明顯的提升。另外，丙酮亦可取代 THF 和 n-hexane 搭配，但獲得的晶體產率略少於 THF 和 n-hexane 的搭配。推估原因可能是丙酮的極性比 THF 大，擴散長晶的時間需要拉長。我們也嘗試利用活性碳可吸附一些顏色的特性，讓淡黃色的魚針草混合物先通過活性碳後再進行擴散長晶。如圖四所示，多進行一次的活性碳的吸附作用，所獲得的魚針草內酯晶體更趨近於透明。



圖三、萃取濃縮後產物、擴散長晶裝置、魚針草內酯晶體和結構示意圖。

表一、擴散長晶時使用的溶劑種類、溶劑比例(體積比)、長晶時間和溫度對產率的影響。

黃綠色乾燥固體 (g)	溶劑種類、溶劑比例(體積比)	長晶時間(天)	長晶溫度 (°C)	產率(%)
1.00	THF/n-hexane 1: 10	5	25	0.5
1.00	THF/n-hexane 1: 10	10	25	0.5
1.00	THF/n-hexane 1: 15	5	25	0.5
1.00	THF/n-hexane 1: 10	5	-10	0.1
1.00	丙酮/n-hexane 1: 10	5	25	0.35
1.00	丙酮/n-hexane 1: 10	10	25	0.45



圖四、未經活性炭吸附與經活性炭吸附所獲得魚針草內酯晶體照片。

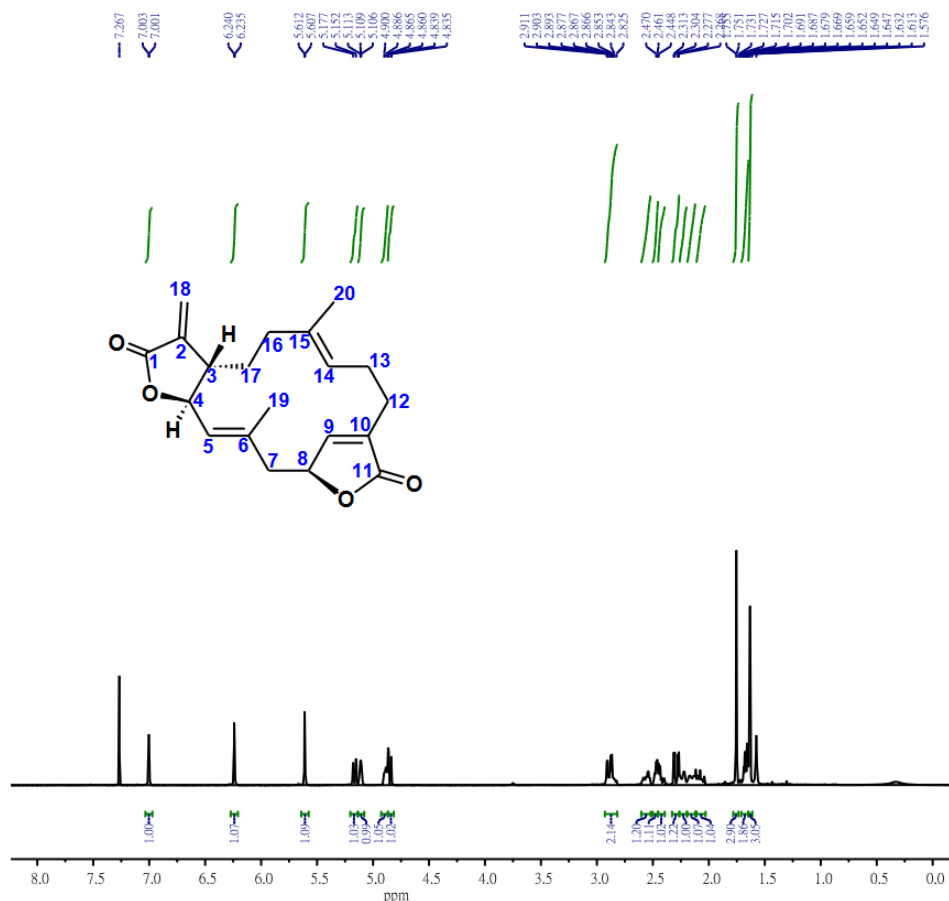
$^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR 圖譜、FTIR 吸收光圖譜、質譜圖和單晶繞射圖

分析魚針草內酯 ^1H NMR 圖譜(圖五)得知除了 C1, C2, C6, C10, C11 和 C15 的碳上沒有氫原子外，其餘碳上氫原子測得的化學位移符合文獻上資料。例如:大環上的氫原子化學位移落在 2.04 到 2.86 ppm 之間，其中 C5 和 C14 上的氫原子化學位移較大主要是碳之間雙鍵的影響，C4 上的氫原子主要是附近高電負度的氧原子造成的較大的化學位移。C9

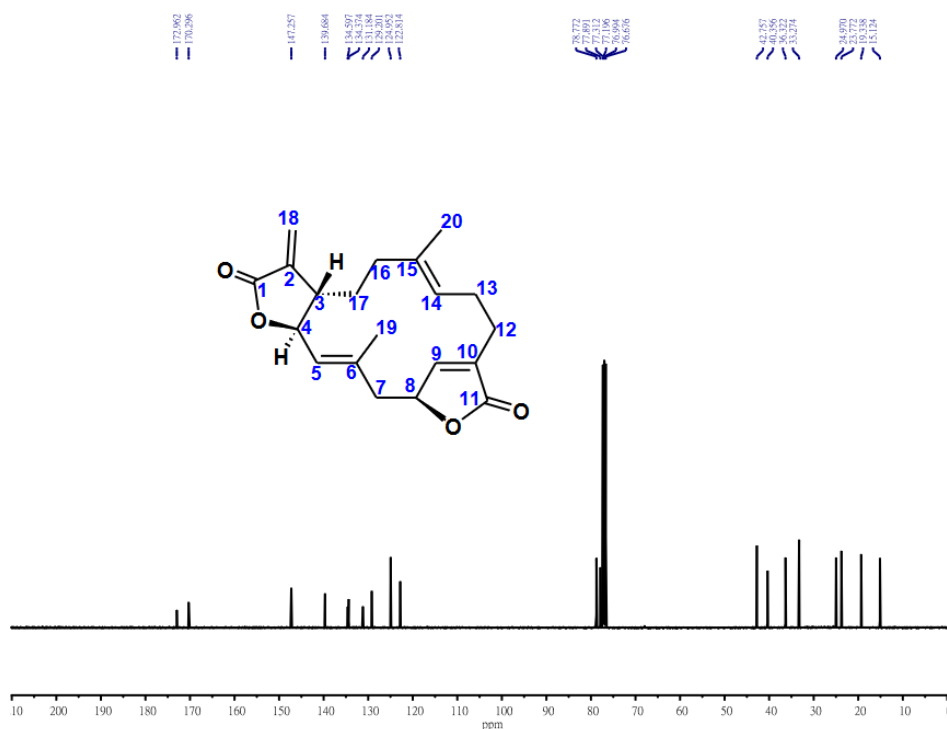
上的氫原子化學位移最大，可歸因於雙鍵和高電負度的氧原子的雙重影響，造成對氫原子核屏蔽減弱。C19 和 C20 是甲烷基，其氫原子化學位移落在合理的範圍。另外，魚針草內酯 ¹³C NMR 圖譜(圖六)趨勢和 ¹H NMR 圖譜一樣，且測得的化學位移符合文獻上資料。C1 和 C11 屬於羰基(carbonyl group)的碳，化學位移分別出現在 170.3 和 173.0 ppm。C2, C5, C6, C9, C10, C14, C15 和 C18 屬於雙鍵的碳，其碳原子化學位移落在合理的範圍 122.9 到 147.4 ppm 之間。完整化學位移整理在表二。

使用 FT-IR 對魚針草內酯的官能基做鑑定結果如圖七，在 3000 cm⁻¹ 的特徵峰為烷基上 C-H 鍵的振動能量，在 1740 cm⁻¹ 的特徵峰為羰基 C=O 雙鍵的振動能量，和 NMR 光譜和單晶結構吻合。

我們也利用 GC 質譜來鑑定所獲得的魚針草內酯晶體的成份。如圖八所示，荷質比 (m/z) 為 328.30 和 329.30 與理論質 (m/z: 328.1675 (100.0%), 329.1708 (21.6%)) 很靠近，證明成功分離長晶出魚針草內酯。



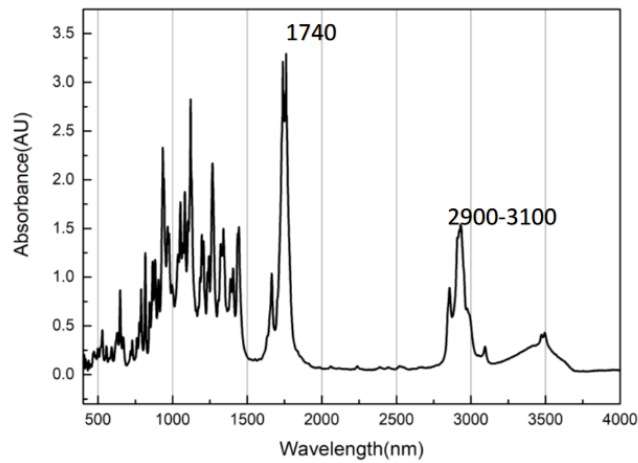
圖五、魚針草內酯之 ¹H-NMR 光譜圖(氘代溶劑為 CDCl₃)。



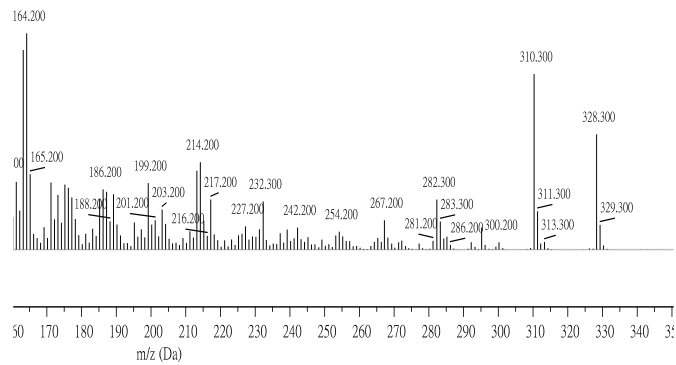
圖六、魚針草內酯之 ^{13}C -NMR 光譜圖(氘代溶劑為 CDCl_3)。

表二、魚針草內酯 $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR 化學位移。

碳原子位置	^1H NMR 化學位移 (400 MHz, CDCl_3)	^{13}C NMR 化學位移 (101MHz, CDCl_3)
C1	-	170.3
C2	-	139.6
C3	2.45 (m, 1H)	42.7
C4	4.81 (m, 1H),	77.9
C5	5.08 (m, 1H),	129.1
C6	-	131.2
C7	2.86 (dd, 1H), 2.26 (dd, 1H)	40.3
C8	5.12 (bd, 1H)	78.8
C9	6.98 (bs, 1H)	147.4
C10	-	134.5
C11	-	173.0
C12	2.39 (m, 1H), 2.52 (m, 1H)	24.9
C13	2.19 (m, 1H), 2.04 (m, 1H)	36.3
C14	4.85 (bd, 1H)	125.0
C15	-	134.3
C16	2.12 (m, 1H), 2.80 (m, 1H)	23.7
C17	1.62-1.64 (m, 2H)	33.3
C18	6.12 (bs, 1H), 5.57 (bs, 1H),	122.9
C19	1.72 (s, 3H),	19.3
C20	1.59 (s, 3H)	15.1

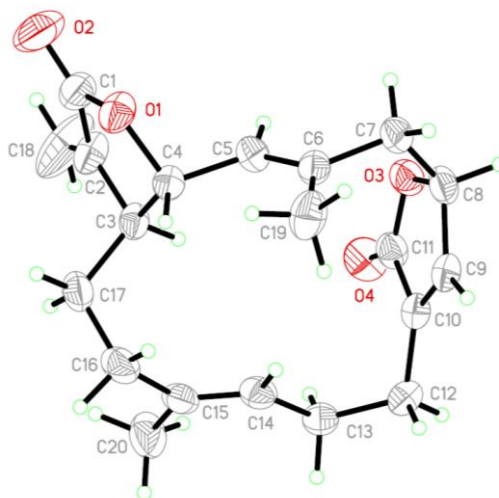


圖七、魚針草內酯之 FTIR 光譜圖(KBr 鹽片)。



圖八、魚針草內酯之 GC-Mass 質譜圖。

進一步地，我們也將獲得的魚針草內酯單晶送測單晶 X-ray 繞射實驗，如圖九所示，證實萃取、純化後獲得的晶體為魚針草內酯。晶體結構參數和鍵長和鍵角分別整理如表三和表四。其中 C1-O1 和 C11-O4 的鍵長分別為 1.200(3) 和 1.199(2) Å，符合羰基 (C=O) 雙鍵的鍵長。另外，C2-C18, C5-C6, C9-C10 和 C14-C15 的鍵長分別為 1.315(3), 1.327(3), 1.329(2) 和 1.328(3) Å，亦落在羰雙鍵的鍵長範圍。



圖九、魚針草內酯之單晶結構 ORTEP 圖。

陸、結論

本篇利用丙酮或酒精溶劑從天然草本植物-魚針草(*Anisomeles indica*) 葉片中萃取出具有生物活性的大環二萜類魚針草內酯(ovatiolide)，經由簡單濃縮、分離和純化，可得到高產率的魚針草內酯，此化合物經由不同光譜(NMR、FT-IR、GC-MS 及 X-ray 晶體繞射實驗)證實。在分離純化上，我們簡化了層析管柱的填充量來達到綠色化學的要求(有機展開液的減量)，雖然分離效果無法得到單一產物，但利用溶解度不同的特性，經由再次擴散長晶，與文獻中的數據比較依然可獲得高純度和高產率的目標物。另外，針對溶劑擴散長晶的溶劑種類、溶劑比例和長晶溫度亦做了調控，發現溶劑種類使用 THF 和 n-hexane 搭配和體積比例為 1:10，在室溫條件下擴散長晶五天能獲得最高產率的魚針草內酯的晶體。未來的目標也將持續改良層析管柱分離的部分，朝綠色化學目標前進。

柒、謝誌

作者李建明感謝凱耀投資股份有限公司產學合作培訓計畫及花蓮玉里子修農園提供魚針草原料。

表三、魚針草內酯晶體結構參數。

Empirical formula	C ₂₀ H ₂₄ O ₄
Formula weight	328.39
Crystal system	Orthorhombic
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Unit cell dimensions	a = 10.7714(3) Å α = 90° b = 12.8674(3) Å β = 90° c = 13.0829(3) Å γ = 90°
Volume	1813.29(8) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.203 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.668 mm ⁻¹
F(000)	704
Crystal size	0.270 x 0.207 x 0.188 mm ³
Theta range for data collection	4.820 to 74.968°.
Index ranges	-13<=h<=13, -15<=k<=16, -16<=l<=14
Reflections collected	11084
Independent reflections	3712 [R(int) = 0.0211]
Completeness	99.2 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.7539 and 0.6477
Data / restraints / parameters	3712 / 0 / 219
Goodness-of-fit on F ²	1.056
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0343, wR2 = 0.0936
R indices (all data)	R1 = 0.0347, wR2 = 0.0942
Absolute structure parameter	-0.01(3)
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. peak and hole	0.255 and -0.232 e.Å ⁻³

表四、魚針草內酯晶體鍵長(單位 Å)和鍵角(°)。

O(1)-C(1)	1.349(3)	O(1)-C(4)	1.480(2)
O(2)-C(1)	1.200(3)	O(3)-C(11)	1.361(2)
O(3)-C(8)	1.448(2)	O(4)-C(11)	1.199(2)
C(1)-C(2)	1.480(3)	C(2)-C(18)	1.315(3)

C(2)-C(3)	1.494(3)	C(3)-C(17)	1.539(3)
C(3)-C(4)	1.544(2)	C(4)-C(5)	1.495(2)
C(5)-C(6)	1.327(3)	C(6)-C(19)	1.492(3)
C(6)-C(7)	1.515(3)	C(7)-C(8)	1.529(3)
C(8)-C(9)	1.482(3)	C(9)-C(10)	1.329(2)
C(10)-C(11)	1.482(2)	C(10)-C(12)	1.493(2)
C(12)-C(13)	1.531(3)	C(13)-C(14)	1.505(2)
C(14)-C(15)	1.328(3)	C(15)-C(20)	1.500(3)
C(15)-C(16)	1.509(3)	C(16)-C(17)	1.532(3)
C(1)-O(1)-C(4)	110.94(14)	C(11)-O(3)-C(8)	109.44(14)
O(2)-C(1)-O(1)	121.8(2)	O(2)-C(1)-C(2)	129.7(2)
O(1)-C(1)-C(2)	108.46(16)	C(18)-C(2)-C(1)	122.2(2)
C(18)-C(2)-C(3)	128.9(2)	C(1)-C(2)-C(3)	108.84(16)
C(2)-C(3)-C(17)	111.51(16)	C(2)-C(3)-C(4)	101.63(15)
C(17)-C(3)-C(4)	112.79(15)	O(1)-C(4)-C(5)	107.93(14)
O(1)-C(4)-C(3)	105.00(13)	C(5)-C(4)-C(3)	113.66(14)
C(6)-C(5)-C(4)	126.66(18)	C(5)-C(6)-C(19)	123.76(18)
C(5)-C(6)-C(7)	120.50(18)	C(19)-C(6)-C(7)	115.74(17)
C(6)-C(7)-C(8)	114.63(15)	O(3)-C(8)-C(9)	103.81(14)
O(3)-C(8)-C(7)	109.29(15)	C(9)-C(8)-C(7)	117.04(17)
C(10)-C(9)-C(8)	111.02(16)	C(9)-C(10)-C(11)	106.96(16)
C(9)-C(10)-C(12)	130.49(16)	C(11)-C(10)-C(12)	122.55(15)
O(4)-C(11)-O(3)	121.85(17)	O(4)-C(11)-C(10)	129.39(18)
O(3)-C(11)-C(10)	108.74(15)	C(10)-C(12)-C(13)	112.82(13)
C(14)-C(13)-C(12)	113.50(15)	C(15)-C(14)-C(13)	124.78(17)
C(14)-C(15)-C(20)	121.80(17)	C(14)-C(15)-C(16)	121.68(18)
C(20)-C(15)-C(16)	116.47(18)	C(15)-C(16)-C(17)	112.83(19)
C(16)-C(17)-C(3)	113.35(16)		

捌、參考文獻

- Manchand, P. S., & Blount, J. F. (1977). Stereostructures of the Macrocyclic Diterpenoids Ovatodiolide and Isoovatodiolide. *J. Org. Chem.*, 42(24), 3824–3828.
- Arisawa, M., Nimura, M., Ikeda, A., Hayashi, T., Morita, N., Momose, Y., Takeda, R., & Nakanishi S. (1986). Biologically Active Macrocyclic Diterpenoids from Chinese Drug "Fang Fēng Cǎo" I. Isolation and Structure. *Planta Med.*, 38–41.
- Yeh, T.-H., & Tzeng, Y.-M. (2008). High efficiency extraction and purification of ovatodiolide from *Anisomeles indica*. Master Thesis, Graduate Institute of Biochemical Sciences and Technology, Chaoyang University of Technology.
- Yu, C.-Y., Teng, Jerry C.-L., Hung, P.-S., Cheng, C.-C., Hsu, S.-L., Hwang, G.-Y., & Tzeng, Y.-M. (2018). Ovatodiolide isolated from *Anisomeles indica* induces cell cycle G2/M arrest and apoptosis via a ROS-dependent ATM/ATR signaling pathways. *Eur. J. Pharmacol.* 819, 16–29.
- Xiang, J., Ding, Y., Li, J., Zhao, X., Sun, Y., Wang, D., Liang Wang, L., & Chen, Y. (2019). Ovatodiolides: Scalable Protection-Free Syntheses, Configuration Determination, and Biological Evaluation against Hepatic Cancer Stem Cells. *Angew Chem Int Ed Engl.* 58(31):10587–10590.
- Xiang, J., Zhang, X., Wang, D., Li, J., Li, Q., Wang, Q., Ding, Y., Chen, T., Sun, Y., Bao, S., Chen, J., Li, D., Wang, L., & Chen, Y. (2020). Chemical Modification of Ovatodiolide Revealed a Promising Amino-prodrug with Improved Pharmacokinetic Profile. *Chem. Commun.*, 56, 11018–11021.