

中藥八角烏的成分

林啓壽 于德泉*

(北京医学院藥学系)

提要 中藥八角烏 (*Podophyllum versipelle* Hance) 的根和根茎中含有 4.2% 的醇溶性树脂。由树脂中按氧化铝吸附柱层离法, 分离出二种結晶性成分, 其一經鉴定为 podophyllotoxin, 約占树脂的 15%; 另一成分含量較少, 仅占树脂的 0.33%, 經証明与 dehydropodophyllotoxin 为同一物质。此外, 通过紙层离法和紙上电泳法以及紫外吸收光谱自树脂中还檢識出一种黄酮类化合物, 很可能与山奈黄碱素为同一物质。

小蘗科鬼臼属植物足叶草 (*Podophyllum emodi*) 的根和根茎, 曾長時間用作泻药, 其中含有多量醇溶性树脂成分, 称为足叶草树脂 (Podophyllin)。自从 1942 年 Kaplan^[1] 报告局部应用 25% 足叶草树脂的液状石蜡混悬液对于尖头湿疣 (condyloma acuminatum) 有显著疗效以后, 引起学者們进一步对足叶草树脂生理作用的研究, 并探討其中的有效成分。1946 年 King 和 Sullivan^[2] 报导足叶草树脂对兔細胞和人类皮肤能产生似秋水仙碱的作用, 更导致对鬼臼属 (*Podophyllum*) 植物广泛而深入的研究, 不但确定了其中的有效成分, 同时亦发现了不少新的化合物。例如由鬼臼属內三个品种 *P. emodi*^[3-5], *P. peltatum*^[6-8] 和 *P. sikkimensis*^[9,10] 的树脂中, 曾分离出十多种結晶性的木脂素类 (lignans) 成分。其中属于 B 环 *trans* 2:3-*cis* 3:4 结构的 podophyllotoxin, α -peltatin, β -peltatin 和 sikkimotoin 等以及由它們衍生出的甙类, 都是抗肿瘤的有效成分。虽然这些有效成分比秋水仙碱的毒性小, 但仍不适于全身性的应用, 現代临床上仅用作外用药。

我国所产鬼臼属植物約有四种, 主要分布于西南地区^[11]。台湾产的八角蓮 (*Podophyllum pleianthum* Hance), 其根和根茎經日人柴田等^[12]的研究, 証明含有二种木脂素类成分——podophyllotoxin 和 desoxypodophyllotoxin 以及五种黄碱素类。四川产的八角烏是 *Podophyllum versipelle* Hance 的根和根茎, 其化学成分尙未見报告。我們取自成都中藥店的八角烏**, 經過化学研究, 知含树脂量为 4.20%, 由此种树脂中按照 Hartwell 等^[6]所报告的类似氧化铝吸附柱层离法, 分离出二种結晶性木脂素类成分, 称为八角烏素甲和乙。前者約占树脂的 15%, 后者含量很少, 仅为树脂的 0.33% 左右。

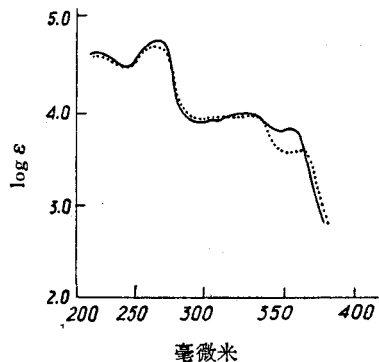
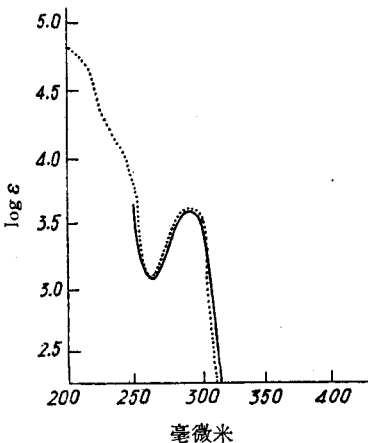
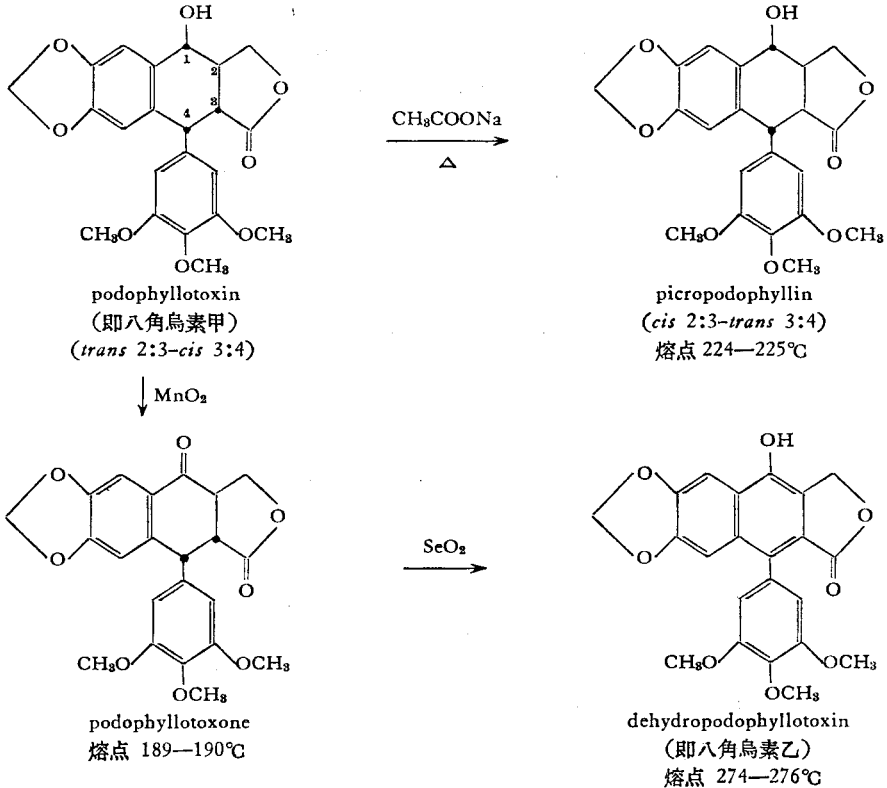
由 95% 酒精和苯混液中結晶出的八角烏素甲, 为无色稜形結晶体, 熔点 116—117°C, 于 110°C 干燥后, 熔点 185—187°C, 与 Hartwell 等^[13]报告的 podophyllotoxin 性質相似,

本文 1963 年 1 月 17 日收到。

* 現在通訊处: 北京中国医学科学院藥物研究所。

** 样品承謝成科教授鉴定, 并与中国科学院植物研究所所藏标本比較, 确証为 *Podophyllum versipelle* Hance。

其乙醇溶液的紫外吸收光谱与文献报告^[14]相似, 见图 1。八角乌素甲氯仿溶液的红外吸收光谱中各吸收峰的位置亦和文献^[14]一致。此外还制备了八角乌素甲的如下式各衍生物, 均证明与文献报告^[15]的 podophyllotoxin 相同, 能够证明八角乌素甲与 podophyllotoxin 为同一物质。



.....podophyllotoxin; ——八角乌素甲。

.....八角乌素乙; ——dehydropodophyllotoxin。

八角乌素乙为微黄色的结晶体, 熔点 275—276°C, 其紫外吸收光谱与文献报告^[16] dehydropodophyllotoxin 的吸收光谱基本上相同, 见图 2。由八角乌素甲经 MnO_2 氧化及

SeO₂ 脱氫等反应所制成的 dehydropodophyllotoxin, 与八角烏素乙混熔点不降低, 能够証明八角烏素乙与 dehydropodophyllotoxin 为同一物質。

八角烏树脂經氧化鋁柱层离, 分出八角烏素甲和乙二种結晶性成分以后的部分, 对盐酸鎂粉呈血紅色反应, 对冰乙酸鎂粉則呈橙紅色反应, 說明可能有黃碱素类成分存在。惟經重結晶精制以及再次氧化鋁柱层离, 均未得到結晶体, 乃改用紙层离法自其中分离出一种黃碱素的色点, 并与已知品槲皮黃碱素 (quercetin) 对照, 得結果如表 1 及表 2。

表 1 黃碱素的 R_f 值 (28°C 左右)

黃碱素	推进剂	HOAc:H ₂ O 3:2	酚:水 (以水飽和的酚)	nBuOH:HOAc:H ₂ O 4:1:5
八角烏黃碱素		0.52	0.72	0.88
槲皮黃碱素		0.42	0.43	0.80

表 2 黃碱素的顏色反应 (紙譜反应)

試剂 顏色	未处理		1% AlCl ₃ 醇溶液		2% NaOH 水溶液		1% PbAc ₂ 水溶液	
	可見光下	紫外光下	可見光下	紫外光下	可見光下	紫外光下	可見光下	紫外光下
八角烏黃碱素	浅黄	灰黄色螢光	黄而微綠	亮黄色螢光	黄	深黄色螢光	淡黄棕	灰黄色螢光
槲皮黃碱素	灰黄	亮黄色螢光	黄	同上	黄	黄棕	棕紅	紫棕

从表 1 及表 2 的結果, 說明八角烏黃碱素与槲皮黃碱素不是同一化合物; 但由其色点的顏色反应来看^[17], 应属于黃碱素醇 (flavonol) 类, 除 3-位有羟基外, 5-位上亦可能有羟基, 或者側鏈的苯环上具有邻二羟基对。通过与槲皮黃碱素在紙上的 R_f 值来对比, 并根据 Bate-Smith 和 Westall^[18] 报告的結果, 可以說明八角烏黃碱素应比槲皮黃碱素分子中少一个羟基, 属于四羟基黃碱素的衍生物。

另取 Whatman 一号滤紙条 100 张, 各滴加样品, 于 HOAc:H₂O (3:2) 溶剂中进行上行紙层离, 剪下 R_f = 0.52 的色点, 合并后加酒精回流提取, 蒸干酒精溶液, 遺留黄色殘渣。此殘渣不显 Molisch 顏色反应, 說明八角烏黃碱素似乎不是甙类。同时将其在 1% 硼砂溶液中进行紙上电泳, 与槲皮黃碱素比較, 結果为:

八角烏黃碱素 泳距 5 毫米⊕
槲皮黃碱素 泳距 21 毫米⊕
导电液: 1% 硼砂溶液, 430 伏, 8 小时。

根据桥本、森和木村三人^[19]的报告, 此种結果說明八角烏黃碱素分子中缺少側鏈苯环上的邻二羟基对。

此种黄色殘渣的紫外吸收光譜为: λ_{max}^{EtOH} 264 毫微米 (log ε 3.57 以山奈黃碱素計算), 300 毫微米 (3.36) 及 367 毫微米 (3.48) 与文献^[17]报告的山奈黃碱素 (keampferol) 相似。

通过以上試驗結果, 推測八角烏黃碱素与山奈黃碱素的性質非常近似, 因而乃按文献报告的方法^[20], 自植物原料中分离出山奈黃碱素, 与八角烏黃碱素在相同情况下进行三种溶剂系統的紙层离和紙上电泳, 所測得的 R_f 值与泳距完全相同, 由此証明八角烏黃碱素与山奈黃碱素很可能是同一物質。

实 驗 部 分*

(一) 树脂的提取

取干燥八角烏粉末 900 克,按渗漉法以 95% 酒精为溶剂,提尽可溶性成分。合并酒精提取液,减压浓缩至糖浆状,放冷后,缓缓倾入 1% 盐酸 600 毫升中,即有黄色无定形树脂沉淀析出。滤集沉淀,以冷水洗滌至呈中性后,常温干燥,得八角烏树脂 34 克,产率约 4.20%。

(二) 八角烏树脂的吸附柱层离

取八角烏树脂 30 克微温(50°C)使溶于无水酒精 60 毫升中,冷后加入等量无水苯,混匀后供层离用。

按常法做成氧化铝(130 克,苏联出品,经加热活化制成)吸附筒,先以无水酒精与苯混液(1:1)润湿,再加入如上制成的八角烏树脂溶液,流速约每分钟 25—30 滴,开始时,色层谱的顶端出现:上,土黄色;中,金黄色;下,微绿色三个狭小的色层,随着溶液的通过,色层的范围逐渐加大,至最下的微绿色色层到达吸附柱底时,流出的溶液现淡绿色,吸附柱继续以无水酒精和苯混液(1:1)冲洗,收集微绿色的色层冲洗液,是为第 I 液层。继续冲洗,依次按表 3 情况,收集不同的液层。

表 3 八角烏树脂的液状层离谱

液 层	溶 液 颜 色	溶液的容量(毫升)	与 FeCl ₃ 试剂反应
I	微 绿 色	75	—
II	棕 黑 色	110	+++
III	棕 红 色	40	++
IV	黄 色	145	+
V	淡 黄 色	230	+

液层 I: 减压浓缩后,常温放置一周,即析出白色稜状结晶体,滤集后,以醚洗去所附着的色素和杂质,再于苯和 95% 酒精混液(1:1)中重结晶三次,熔点 116—117°C,得量 2.5 克,称为八角烏素甲。

液层 II: 再经氧化铝吸附柱层离,操作法同上,共收集四个液层: II₁, II₂, II₃ 及 II₄, 将 II₃, II₄ 分别并入液层 III 及 IV 中,一并处理。

液层 II₁: 共 95 毫升,处理法与液层 I 相同,亦得白色大形的稜状晶体,熔点 115—116°C,得量 2 克,与八角烏素甲混熔点不降低。如此共得八角烏素甲 4.5 克,约占树脂 15%。

液层 II₂: 共 200 毫升减压浓缩后,放置,析出黄色无定形固体,滤集后,使自无水酒精中反复重结晶,得微黄色结晶体约 0.1 克,占树脂约 0.33%,称为八角烏素乙。

液层 III, IV 及 V: 处理法同液层 II₂,均未得到结晶性物质。

八角烏素甲: 为白色稜状晶体,熔点 116—117°C,于 110°C 干燥后,熔点 185—187°C。

* 熔点均未校正。

分析 $C_{22}H_{22}O_8 \cdot \frac{1}{2}C_6H_6 \cdot H_2O$ (熔点 114—118°C)^[13]

计算值, % C 63.68; H 5.77

实验值, % C 63.58; H 5.88

其无水酒精溶液的紫外吸收光谱: λ_{\min} 261 毫微米 ($\log \epsilon$ 3.01), λ_{\max} 294 毫微米 (3.59) [文献^[14]报告 podophyllotoxin 的紫外吸收光谱为: λ_{\max}^{EtOH} 208 毫微米 (4.74), λ_{\min}^{EtOH} 260 毫微米 (3.06), λ_{\max}^{EtOH} 毫微米 293 微米 (3.65)], 见图 1. 其红外吸收光谱: $IR \lambda_{\max}^{CHCl_3}$ 3.05, 3.55, 5.65, 6.30, 6.66, 6.75, 6.85, 7.06, 7.35, 7.53, 8.30, 8.85, 9.65, 10.50 及 10.75 微米.

八角乌素甲的异构化: 取八角乌素甲 0.1 克, 加无水乙酸钠 0.02 克及无水酒精 10 毫升, 回流加热 6 小时, 蒸去酒精, 加水稀释, 滤集析出的沉淀, 再自酒精中重结晶二次, 熔点 224—225°C. 按 picropodophyllin 的熔点 226—227°C.

分析 $C_{22}H_{22}O_8 \cdot H_2O$ (picropodophyllin)

计算值, % C 61.10; H 5.57

实验值, % C 61.00; H 5.48

八角乌素甲的二氧化锰氧化: 取八角乌素甲 800 毫克溶解于 60 毫升氯仿中, 加入二氧化锰 6 克, 回流加热 $1\frac{1}{4}$ 小时. 过滤, 蒸干滤液, 得黄色粘稠渣. 加入苯并加热使溶解后, 放置, 即析出白色沉淀. 滤集沉淀, 自甲醇中重结晶二次, 得柱状晶体, 熔点 189—190°C. 按 podophyllotoxone 熔点 191—192°C.

分析 $C_{22}H_{20}O_8$ (podophyllotoxone)

计算值, % C 64.07; H 4.87

实验值, % C 64.29; H 4.92

Dehydropodophyllotoxin 的制备: 取上得 podophyllotoxone (熔点 189—190°C) 300 毫克, 溶解于 70% 乙酸 20 毫升中, 加入二氧化硒 500 毫克, 回流加热 5 小时. 过滤, 放冷滤液, 即有微黄色结晶体析出. 滤集晶体, 自 70% 乙酸中重结晶三次, 熔点 274—276°C. 按 dehydropodophyllotoxin 熔点 272—274°C.

分析 $C_{22}H_{18}O_8$ (dehydropodophyllotoxin)

计算值, % C 64.39; H 4.39

实验值, % C 64.20; H 4.95

八角乌素乙 为微黄色结晶体, 熔点 275—276°C, 其无水酒精溶液的紫外吸收光谱: λ_{\min} 244 毫微米 ($\log \epsilon$ 4.27), λ_{\max} 265 毫微米 (4.54), λ_{\min} 293 毫微米 (3.77), λ_{\max} 326 毫微米 (3.94), λ_{\max} 362 毫微米 (3.28) [文献^[15]报告 dehydropodophyllotoxin 的吸收光谱 λ_{\max}^{EtOH} 263 毫微米 (4.61), λ_{\max}^{EtOH} 312 毫微米 (3.95), λ_{\max}^{EtOH} 324 毫微米 (4.00), λ_{\max}^{EtOH} 356 毫微米 (3.68)], 见图 2. 与前制得的 dehydropodophyllotoxin 混熔点不降低.

液层 IV: 减压浓缩后, 任其自然挥发至干, 得黄色无定形物, 对盐酸镁粉及冰乙酸镁粉均呈正反应. 但于不同溶剂中反复重结晶, 以及再次重复前述的氧化铝柱层分离操作, 均未得到结晶体, 因而乃进行纸层分离及纸上电泳法的检验.

纸层分离 滤纸为 Whatman 1 号, 按一般方法于 28°C 左右进行上行法层离. 数据为 5 次结果的平均值, 每次结果间绝对数值差均在 ± 0.02 范围以内, 结果见表 1 和表 2.

紙上电泳法 按倒V字形紙上电泳法装置,以1% 硼砂水溶液为导电液,样品滴于 Whatman 1 号紙条的中央,在 430V 恆压下进行 8 小时泳动,得結果已如前述。

致謝 (1) 八角烏原料系由四川医学院药系生药教研组謝成科教授于 1955 年代为购买,并經謝教授鉴定,特此致謝。(2) 紫外光譜系由卫生部药品生物制品检定所涂国士主任于 1956 年代测,元素分析由中国医学科学院药物研究所分析室及我系曹竹兰同志代做,均此致謝。

参 考 文 献

- [1] Kaplan, I. W.: *Condylomata Acuminata*, *N. Orleans Med. Surg. J.*, 1942, **94**, 338.
- [2] King, L. S. and Sullivan, M.: The Similarity of the Effect of Podophyllin and Colchicine and their use in the Treatment of *Condylomata Acuminata*, *Science*, 1946, **104**, 244.
- [3] Nadkarni, M. V., Maury, P. B. and Hartwell, J. L.: Components of Podophyllin VI. Isolation of Two New Compounds from Podophyllum emodi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, **74**, 280.
- [4] Nadkarni, M. V., Maury, P. B., Hartwell, J. L. and Leiter, J.: Components of Podophyllin XI. Isolation of Two New Compounds from Podophyllum emodi, *Wall, ibid.*, 1953, **75**, 1308.
- [5] Dunstan, W. R. and Henry, T. A.: A Chemical Investigation of the Constituents of Indian and American Podophyllum. *J. Chem. Soc.*, 1898, **73**, 209.
- [6] Hartwell, J. L. and Detty, W. E.: Components of Podophyllin, III. Isolation of α - and β -Peltatins, Structure Studies, *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, **72**, 246.
- [7] Hartwell, J. L., Schrecker, A. W. and Greenberg, G. Y.: Components of Podophyllin X, Relation of α -Peltatin to beta-Peltatin., *ibid.*, 1952, **74**, 6285.
- [8] Kofod, H. and Jorgensen, Chr.: Dehydropodophyllotoxin, A New Compound Isolated from Podophyllum peltatum L., *Acta Chem. Scand.*, 1954, **8**, 1296.
- [9] Chatterjee, R. and Dutta, D. K.: Podophyllum II. The Coloring Matters of Podophyllum Sikkimensis R. Shatterjee et S. K. Mukerjee., *Indian J. Physiol. Allied Sci.*, 1950, **4**, 61.
- [10] Chatterjee, R. and Chakravarti, S. S.: Resin Sikkimensis I. Sikkimotoxin, A Lactone from Podophyllum Sikkimensis R. Chatterjee et S. K. Mukerjee., *J. Am. Pharma. Assoc., Sci. Ed.*, 1952, **41**, 415.
- [11] 侯寬昭: 中国种子植物科属辞典, 1958, 345 頁。
- [12] 柴田承二、村思忠一、藤田路一: Studies on the Constituents of Japanese and Chinese Drugs VI. On the Constituents of Rhizomes and Roots of *Podophyllum pleianthum* Hance, 日本药学杂志, 1962, **82**, 777.
- [13] Schrecker, A. W., Hartwell, J. L. and Alford, W. C.: Components of podophyllin XVIII, Polymorphic Modifications of podophyllotoxin, *J. Org. Chem.*, 1956, **21**, 288.
- [14] Hartwell, J. L. and Schrecker, A. W.: The Chemistry of Podophyllin (L. Zechmeister: Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 1958, Vol. 15, p. 143).
- [15] Gensler, W. J., Johnson, F.: Podophyllotoxone, Picropodophyllone and dehydropodophyllotoxin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1955, **77**, 3674.
- [16] 村上孝夫、松島敦子: Studies on the Constitutions of Japanese Podophyllaceae Plants I. On the Constituents of the Root of *Diphylleia Grayi*, 日本药学杂志, 1961, **81**, 1596.
- [17] Geissman, T. A.: Anthocyanins, Chalcones, Aurones, Flavones and Related Water-soluble Plant Pigments (K. Paech and M. V. Tracey: Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 111, 1955, pp. 463—474).
- [18] Bate-Smith, E. C. and Westall, R. G.: Chromatographic Behaviour and Chemical Structure, 1. Some Naturally Occurring Phenolic Substances, *Biochem. Biophys. Acta*, 1950, **4**, 427.
- [19] 森 五彦、小林茂三郎: 滤紙电气泳动法の实际, 1956, pp. 39—40.
- [20] 中冲太七郎、森田直賢: Studies on the Medicinal Resources X, Component of the Leaves of *Juglans Regia* Var. *Sinensis*, 日本药学杂志, 1958, **78**, 521.

STUDIES ON THE CONSTITUENTS OF RHIZOMES AND ROOTS OF *PODOPHYLLUM VERSIPELLE* HANCE

LING CHI-SHAU AND YU DE-QUAN

(School of Pharmacy, Peking Medical College)

ABSTRACT

The resin (about 4.2% in yield) obtained from the dried rhizomes and roots of *Podophyllum versipelle* Hance had been subjected to chemical examination with the aid of liquid chromatography, and two crystalline compounds were isolated. One of them was identified as podophyllotoxin (yield about 15% of the resin), another one yielded only in small quantity (about 0.33% of the resin) was proved to be identical with dehydropodophyllotoxin.

Keampferol, a flavonoid was also detected from the resin by means of the paper chromatography and the paper ionophoresis.