

## 山 药 新 木 脂 素 成 分 的 研 究

韩桂秋 李书明 李长龄

\*J P Springer, \*S B Hwang, \*M N Chang

(北京医科大学药学院; \*Merck Sharp &amp; Dohme Research Lab. USA)

**提要:** 自胡椒科(Piperaceae)植物山药(*Piper hancei* Maxim)的藤茎分离到三种木脂素类化合物, 根据光谱(UV, IR, NMR 和MS)及X-射线单晶衍射分析, 化合物III确定为新结构; (7S, 8R, 3'S)-1'-烯丙基-3'-甲氧基-7-(3, 4-次甲二氧基苯基)-7, 8, 3', 6'-四氢-6'-氧苯并呋喃, 命名为山药素(hancinone); 化合物I为海风藤酮(kadsurenone); 化合物II为denudatin B。后两种化合物首次从本植物中分离。

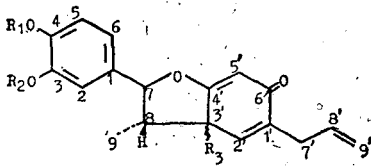
山药为民间草药, 治疗风湿和关节炎。以血小板活化因子(PAF)受体结合实验及PAF血小板聚集实验测定, 化合物I的抑制作用最强, 化合物II明显减弱, 而化合物III无活性

**关键词** 新木脂素; 山药素; 海风藤酮; denudatin B; 山药; 血小板活化因子

山药为胡椒科植物山药(*Piper hancei* Maxim')的藤茎, 主要分布在我国南部。民间用于治疗风湿痛, 关节痛, 气喘等<sup>(1)</sup>。在浙江、福建、湖南等省常作为海风藤的代用品。有关山药的药理及化学研究尚未见报道。近来自海风藤中分离出新木脂素类成分海风藤酮(kadsurenone I), 能抑制血小板活化因子与受体的结合, 活性强, 选择性高。血小板活化因子是近年来发现的一种脂类递质, 与风湿、气喘、过敏性等疾病有关系<sup>(2)</sup>。为寻找木脂素类成分, 了解结构与PAF拮抗剂活性关系, 我们以血小板凝集实验为指导, 进行了活性成分的分离。本文报道三种木脂素成分的分离、鉴定和初步的生物活性结果。

山药粗粉经溶剂分步提取, 血小板凝集实验证明二氯甲烷提取部分有抑制活性。采用柱层及制备薄层层析, 分得化合物I, II及III。化合物I为无色油状物,  $[\alpha]_D^{25} + 26.8^\circ$ ; 高分辨质谱为356.1606, 分子式为 $C_{21}H_{24}O_5$ (计算值: 356.1589)。<sup>1</sup>HNMR  $\delta$  1.08 双峰,  $J=7$  Hz, 为甲基信号,  $\delta$  3.00, 单峰, 3H, 说明有脂肪甲氧基,  $\delta$  3.86, 单峰, 6H, 说明有2个芳香甲氧基, 6.84-7.04; 多重峰, 3H, 为三取代芳环上的氢。根据以上主要化学位移数据, 与海风藤酮标准品的<sup>1</sup>HNMR比较完全一致。证明化合物I为海风藤酮。化合物II也为油状物,  $[\alpha]_D^{25} + 77$ , 质谱分子离子峰为356, 主要碎片峰与海风藤酮的质谱主要碎片峰一致。<sup>1</sup>HNMR与海风藤酮的相比较, 除相当H-8的 $\delta$ 值由2.65移向高场2.18外, 其它各化学位移值几乎全一致, 说明是因海风藤酮的8-位氢受到3' $\alpha$ 位甲氧基去屏蔽的结果<sup>(3)</sup>。化合物II与已知化合物denudatin B的<sup>1</sup>HNMR完全一致。为海风藤酮的立体异构体。化合物III为无色结晶, mp. 79~80°C, 质谱测得分子离子峰为340, 结合元素分析推测其分子式为 $C_{20}H_{20}O_5$ ; 红外光谱在1671.4, 1649  $cm^{-1}$ 为共轭羰基吸收; 紫外在237.5, 291.5 nm处有最大吸收示含双烯酮结构<sup>(4)</sup>。<sup>1</sup>HNMR  $\delta$  3.07, 单峰, 3H 说明为脂肪甲氧基; 6.84-7.02; 多重峰, 3H, 为三取代苯环氢; 2.68; 多重峰, 1个氢; 有一烯丙基结构以5.00-5.28, 多重峰,

2H, 5.70—6.10, 多重峰; 1H; 3.18, 多重峰, 2H归属。并且此烯丙基是在  $SP^2-C$  上 ( $\delta CH_2$  3.18), 而不是在  $SP^3-C$  上 ( $\delta CH_2 < 2.60^{(3)}$ )。6.02 单峰, 为一次甲二氧基。化合物 III 的  $^1H$ NMR 光谱与海风藤酮的对比, 芳香甲氧基信号 ( $\delta$  3.86) 消失, 而在  $\delta$  6.02 处出现相当次甲二氧基的信号。其它的峰几乎完全一样。质谱测定分子离子峰为 340, 较 356 少 16, 恰为两邻位甲氧基被次甲二氧基代替而得。x-射线衍射, 测晶体结构确定化合物 III 的绝对构型为 (7S, 8R, 3'S)-1'-烯丙基-3'-甲氧基-7-(3,4-次甲二氧基苯基)-7,8,3',6'-四氢-6'-氧苯并呋喃。如图 I 所示。化合物 III 为新结构, 命名为山蒟素 hancinone。



- (I)  $R^1=R^2=CH_3$      $R^3=\beta-OCH_3$   
 (II)  $R^1=R^2=CH_3$      $R^3=\alpha-OCH_3$   
 (III)  $R^1-R^2=CH_2$      $R^3=\beta-OCH_3$

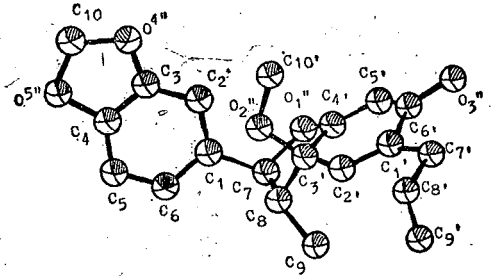


Fig 1. Perspective drawing of compound III

以 PAF 受体结合实验<sup>(5)</sup>及 PAF 引起的血小板聚集实验<sup>(6)</sup>分别测定化合物 I, II, III 的抑制活性, 结果如表 1。

Tab 1. Results of bioassay

Compd	PAF induced platelet aggregation		PAF binding assay	
	Conc ( $\mu M/ml$ )	Inhibition%	Conc ( $\mu M/ml$ )	Inhibition%
I	$5.59 \times 10^{-2}$	100	$1.40 \times 10^{-2}$	99
	$2.81 \times 10^{-2}$	100	$2.81 \times 10^{-3}$	89
	$2.81 \times 10^{-3}$	50.7	/	/
II	$5.59 \times 10^{-2}$	100	$1.40 \times 10^{-2}$	66
	$2.81 \times 10^{-2}$	96.1	$2.81 \times 10^{-3}$	37
	$2.81 \times 10^{-3}$	0	/	/
III	$5.85 \times 10^{-2}$	0	$1.47 \times 10^{-2}$	29
			$2.94 \times 10^{-3}$	16

## 实 验 部 分

熔点用 Kofler 显微熔点仪测定, 未经校正。紫外光谱用 Beckman DU-7 测定。红外光谱用 Nicolet 5DX-FI 型红外光谱仪测定。核磁共振谱用 FX-90 Q 型核磁共振仪测定。TMS 为内标。质谱用 ZAB-2 F 和 AEI MS 50 型质谱仪测定。旋光用 Polartronic D 型自动旋光仪测定。X-射线衍射由自动四园衍射仪测定。柱层及制备性薄层所用硅胶为青岛海洋化工厂出品。实验原料购自湖南长沙药材公司。

一、提取分离 原料粗粉 1 kg, 二氯甲烷室温提取, 提取液过滤, 减压浓缩得浸膏 28 g。取 20 g 浸膏硅胶柱层析, 二氯甲烷—乙酸乙酯梯度洗脱。薄层层析检查各收集流分。以紫外 (254 nm) 及碘显色。合并相同组分。减压回收溶剂, 共得 14 个部分  $F_1 \sim F_{14}$ 。其中  $F_6$  对 PAF

引起的血小板聚集有抑制活性。

取  $F_6$  (1.35 g) 硅胶柱层析, 石油醚 (30~60°C) 一丙酮梯度洗脱, 收集流分, 按薄层层析将相同组分合并。将 14~27 流分合并回收溶剂, 再以同上分离条件作硅胶柱层析, 取其中 6, 7 流分, 合并回收溶剂, 乙醚重结晶, 得无色片状结晶, 为化合物 III (40 mg)。

取  $F_8$  (1.97 g) 硅胶柱层析, 分离条件同上, 共得 50 份 ( $F_6$  1~ $F_6$  50)。将第  $F_6$  30~ $F_6$  34 合并 (0.06 g) 作硅胶制备薄层分离; 乙醚一石油醚 (1:2.5) 展开, 得四条带。取其中宽带 II, 硅胶柱层纯化, 石油醚一丙酮 (5:1) 洗脱。回收溶剂后得油状物 17 mg。为化合物 I。

取  $F_6$  18~ $F_6$  29, 合并得 0.49 g。以上项制备薄层条件分离, 取带 II, 硅胶柱层析纯化, 处理后得无色油状物 180 mg。为化合物 II。

## 二、鉴定

化合物 I 无色油状物,  $[\alpha]_D^{25} + 26.8^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c$ ,  $0.31 \times 10^{-4}$ )。 (文献<sup>[2]</sup> +  $3.2^\circ$   $\text{CHCl}_3$ );  $\text{UV} \lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  nm ( $\epsilon$ ) 235.0 (9617), 285.0 (2869), 301.5 (sh.);  $\text{IR} \nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$   $\text{cm}^{-1}$  1671, 1649, 1628;  $\text{MS m/e} (\%)$  356 ( $\text{M}^+$  41), 341 (1.5), 191 (28), 178 (100), 165 (20), 163 (14), 151 (10); 高分辨质谱 356.1606 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_5$  计算值 356.1589);  $^1\text{HNMR} \delta$  ppm ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.08 (3 H d  $J=7$  Hz  $\text{CH}_3-8$ ), 2.65 (1 H, m, H-8), 3.00 (3 H, s,  $\text{OCH}_3-3'$ ), 3.10 (2 H, m, H-7'), 3.86 (6 H, s,  $\text{ArOCH}_3$ ), 4.96~5.24 (3 H, m, H-7, H-9'), 5.60~6.08 (1 H, m, H-8'), 5.86 (1 H, s, H-5'), 6.20 (1 H, m, H-2'), 6.84~7.04 (3 H, m, Ar-H)。以上结果与文献<sup>[2]</sup>报道之海风藤酮一致。故证明化合物 I 为海风藤酮。

化合物 II 无色油;  $[\alpha]_D^{25} + 77^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c$ , 0.0074) [文献<sup>[4]</sup> +  $82.7^\circ$  ( $\text{CH}_3\text{OH}$   $c$ , 2.67)];  $\text{UV} \lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  nm ( $\epsilon$ ) 235.5 (16767), 287.5 (6373), 302.0 (sh);  $\text{IR} \nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$   $\text{cm}^{-1}$  1671, 1649, 1628;  $^1\text{HNMR} \delta$  ppm ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.10 (3 H, d,  $J=7$  Hz,  $\text{CH}_3-8$ ), 2.18 (1 H, m, H-8), 3.13 (3 H, s,  $\text{OCH}_3-3'$ ), 3.16 (2 H, m, H-7'), 3.90 (6 H, s,  $\text{ArOCH}_3$ ), 5.00~5.28 (2 H, m, H-9'), 5.36 (1 H, d,  $J=9.5$  Hz, H-7), 5.84 (1 H, s, H-5'), 5.65~6.05 (1 H, m, H-8'), 6.28 (1 H, m, H-2'), 6.82~6.90 (3 H, m, Ar-H);  $\text{MS m/e} (\%)$  356 ( $\text{M}^+$  29), 341 (1.6), 191 (23), 178 (100), 165 (13), 163

Tab 2. Bond distances in angstroms of compound III

Bond	Å	Bond	Å
O1 <sup>o</sup> - C7	1.485(5)	C5' - C4'	1.320(5)
O1 <sup>o</sup> - C4'	1.359(4)	C1 - C2	1.380(6)
C7 - C8	1.527(5)	C1 - C6	1.358(6)
C7 - C1	1.510(5)	C2 - C3	1.359(6)
C8 - C3'	1.545(5)	C3 - C4	1.335(6)
C8 - C9	1.515(6)	C3 - O4 <sup>o</sup>	1.376(5)
C3' - C2'	1.486(5)	C4 - C5	1.345(7)
C3' - C4'	1.480(5)	C4 - O5 <sup>o</sup>	1.393(6)
C3' - O2 <sup>o</sup>	1.442(4)	C5 - C6	1.380(7)
C2' - C1'	1.322(5)	O4 <sup>o</sup> - C10	1.412(7)
C1' - C6'	1.514(5)	C10 - O5 <sup>o</sup>	1.379(7)
C1' - C7'	1.494(5)	O2 <sup>o</sup> - C10'	1.404(5)
C6' - C5'	1.452(5)	C7' - C8'	1.512(7)
C6' - O3 <sup>o</sup>	1.246(5)	C8' - C9'	1.263(9)

The standard deviation of the least significant figures of each distance are given in parentheses

(21), 151 (5)。元素分析实验值% C 70.93, H 7.06;  $C_{21}H_{24}O_5$  计算值, % C 70.79, H 6.74。以上结果与文献报道<sup>(4)</sup>之 denudatin B 一致, 故证明化合物 II 为 denudatin B。

化合物 III。无色片状结晶, mp 79~80°C;  $[\alpha]_D^{25} + 30.1$  ( $CHCl_3$  c, 0.0133); UVλ

Tab 3. Bond angles in degrees of compound III

Angle			Degree
C7	-O1°	-C4'	108.6(3)
O1°	-C7	-C8	104.8(3)
O1°	-C7	-C1	110.3(3)
C8	-C7	-C1	116.9(3)
C7	-C8	-C3'	101.2(3)
C7	-C8	-C9	111.3(3)
C3'	-C8	-C9	113.3(3)
C8	-C3'	-O2'	118.9(3)
C8	-C3'	-C4'	100.7(3)
C8	-C3'	-O2°	103.8(3)
C2'	-C3'	-C4'	112.8(3)
C2'	-C3'	-O2°	109.5(3)
C4'	-C3'	-O2°	110.6(3)
C3'	-C2'	-C1'	123.1(3)
C2'	-C1'	-C6'	118.8(3)
C2'	-C1'	-C7'	125.0(4)
C6'	-C1	-C7'	116.2(3)
C1'	-C6'	-C5'	118.8(3)
C1'	-C6'	-O3°	119.0(3)
C5'	-C6'	-O3°	122.1(4)
C6'	-C5'	-C4'	118.1(4)
O1°	-C4'	-C3'	110.2(3)
O1°	-C4'	-C5'	124.4(3)
C3'	-C4'	-C5'	125.4(3)
C7	-C1	-C2	123.4(3)
C7	-C1	-C6	118.1(4)
C2	-C1	-C6	118.5(4)
C1	-C2	-C3	117.4(4)
C2	-C3	-C4	123.0(4)
C2	-C3	-O4°	127.9(4)
C4	-C3	-O4°	109.1(4)
C3	-C4	-C5	121.5(4)
C3	-C4	-O5°	110.3(4)
C5	-C4	-O5°	123.2(4)
C4	-C5	-C6	116.1(4)
C1	-C6	-C5	123.5(4)
C3	-O4°	-C10	105.9(4)
O4°	-C10	-O5°	108.7(5)
C4	-O5°	-C10	105.4(4)
C3'	-O2°	-C10'	116.7(3)
C1'	-C7'	-C8'	112.8(3)
C7'	-C8'	-C9'	127.0(5)

The standard deviation of the least significant figures of each angle are given in parentheses

$\nu_{\max}^{\text{EtOH}}$  (e) nm 237.5 (12729), 291.5 (6106), 311.5 (sh.);  $\text{IR}_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  1671.4, 1649, 1627; MS m/e (%) 340 ( $\text{M}^+$  37), 325 (1.4), 309 (10), 165 (17), 163 (15), 162 (100), 149 (13), 135 (14);  $^1\text{HNMR}$   $\delta$  ppm ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.12 (3 H, d,  $\text{J}=7$  Hz,  $\text{CH}_3$ -8), 2.68 (1 H, m, H-8), 3.07 (3 H, s,  $\text{OCH}_3$ -3'), 3.18 (2 H, m, H-7'), 5.00~5.28 (3 H, m, H-7, H-9'), 5.70~6.10 (1 H, m, H-8'), 5.97 (1 H, s, H-5'), 6.02 (2 H, s,  $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6.27 (1 H, m, H-2'), 6.84-7.02 (3 H, m, Ar-H)。元素分析实验值: % C 70.60 H 6.10  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_5$  计算值 % C 70.59 H 5.89。

化合物 III 晶体结构的测定: 将化合物 III 以乙醚处理; 空间群为  $\text{p}2_12_12_1$ , 晶胞参数  $a=6.948$  (2) Å,  $b=10.414$  (2) Å,  $c=23.730$  (4) Å,  $z=4$ , 计算密度为  $1.317 \text{ g/cm}^3$ , 以 Cu 辐射自动四园衍射仪测定, 测出 1362 反射点, 1219 观测点 ( $I \geq 3\sigma I$ )。结晶确定是以多解析 tangent formula 和付利叶分析, 用全矩阵最小二乘法修正。各键长、键角如表 II、表 III 所示

致谢 生药经卫生部药检所生药室赵达文同志协助鉴定。本校仪器中心代测核磁共振氢谱、质谱, 红外光谱, 药学院仪器中心代测元素分析

### 参 考 文 献

1. 江苏新医学院编. 中药大辞典 第一版. 上海: 上海人民出版社, 1977:172.
2. Chang MN, et al. Neolignans from *Piper futokadsura* *Phytochemistry* 1985; 24:2079.
3. Gottlieb OR. Neolignans. In: Grisebach WH and Kirby GW, ed. *Fortschritte-d Chem Org Naturst.* Vol 35. New York: Springer-Verlag, 1978:1~72.
4. Iida T, et al. Neolignans from *Magnolia denudata* *Phytochemistry* 1982; 21:2939.
5. Hwang SB, et al. Specific receptor sites for 1-0-alkyl-2-0-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (platelet activating factor) on rabbit platelet and guinea pig smooth muscle membrane. *Biochemistry* 1983; 22:4756.
6. Onitsuka M, et al. New platelet aggregation inhibitors from Dan-Shen, radix of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Chem Pharm Bull* 1983; 31:1670.

## NEOLIGNANS FROM *PIPER HANCEI* MAXIM

HAN Gui-Qiu, LI Shu-Ming, LI Chang-Ling, \*J P Springer, \*S B Hwang and \*M N Chang

(College of Pharmacy, Beijing Medical University, Beijing; \*Merck Sharp & Dohme Research Lab. USA)

**ABSTRACT.** *Piper hancei* Maxim, Family Piperaceae, has been used in Chinese folk medicine for the treatment of rheumatoid arthritis and asthma. A new neolignan, hancinone (III) was isolated together with two known neolignans, kadsurenone (I) and denudatin B (II). The structure of hancinone (III) was established as (7S, 8R, 3'S)-1'-allyl-3'-methoxy-7-(3,4-methylenedioxyphenyl)-8-methyl-7, 8, 3', 6'-tetrahydro-6'-oxobenzofuran through interpretation of the spectral data (UV, IR, NMR and MS) and the results of a single crystal X-ray analysis.

Kadsurenone (I) and denudatin B (II) were isolated for the first time from this plant.

In the PAF receptor binding assay and the test of platelet aggregation, denudatin B (II) was substantially less active than kadsurenone (I), whereas hancinone (III) showed no PAF antagonistic activity.

**Key words** Neolignans; Hancinone; Kadsurenone; Denudatin B; *Piper hancei* Maxim; Platelet activating factor