

樟叶胡椒中新木脂素成分的研究*

马迎 韩桂秋 李长龄 诚静容

BH Arison**, SB Hwang**

(北京医科大学药学院, 北京100083; **Merck Sharp & Dohme Research Lab., USA)

提要 自胡椒科胡椒属植物樟叶胡椒 (*Piper polysyphorum* C. DC) 中分离到六个新木脂素 (neolignans) 类化合物, 经光谱 (UV, IR, MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, 2D-NMR, CD) 分析及衍生物制备, 确定 II 为新化合物, 即 threo- $\Delta^{7'-7}$ -羟基-3, 4, 5, 3', 5'-五甲氧基-8-O-4'-新木脂素, 为一对对映体, 命名为樟叶素 (polysyphorin), I, III, IV 为新的对映体, 分别为 (+)-virolongin, (+)-grandisin 及 (+)-lancifolin D。化合物 V 为南藤素 (wallichinine), VI 为山蒟素 D (hancinone D)。血小板活化因子 (PAF) 受体结合实验及 PAF 引起的血小板聚集实验证明化合物 I ~ V 具有明显的抑制活性。

关键词 樟叶胡椒; 新木脂素; 樟叶素; 血小板活化因子。

樟叶胡椒 (*Piper polysyphorum* C. DC) 主要分布于我国的云南和贵州⁽¹⁾, 其化学成分和药理研究未见报道。为寻找血小板活化因子 (PAF) 受体拮抗剂, 对樟叶胡椒的活性部分进行了研究。从有活性的二氯甲烷提取物以反复硅胶柱层析, 制备薄层层析, 制备高压液相层析, 分离到六个新木脂素类化合物。其中除南藤素 (V) 及山蒟素 D (VI) 已报道外⁽²⁾, 其它皆为首次从自然界中分离。本文报道其成分的分离, 结构鉴定和抑制 PAF 的活性测定结果。

化合物 I 为无色油状, 高分辨质谱分子离子峰为 402.2044, 分子式 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (计算值 402.2042)。其 MS 及 $^1\text{HNMR}$ 谱 (表 1) 与从植物 *Virola elongata* 中分离的化合物 virolongin 基本相同⁽³⁾, 但旋光相反, 化合物 I 为 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 16.0$ (CHCl_3), 而 virolongin 的 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 12.4$ (CHCl_3), 因此表明化合物 I 为 virolongin 的对映体, 即 (+)-virolongin。本文应用 COSY 谱, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱 (表 2) 对 virolongin 的所有 ^{13}C , ^1H 的化学位移做了进一步归属, 推断 I 的结构为 (+)- $\Delta^{7'-7}$ -3, 4, 5, 3', 5'-五甲氧基-8-O-4'-新木脂素。

化合物 II 为无色棱晶, mp 147 ~ 148 °C, 紫外光谱在 214, 266 nm 有最大吸收。高分辨质谱分子离子峰为 418.2007, 分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_7$ (计算值 418.1991), 质谱碎片与化合物 I 的类似, 不同点在于碎片 m/z 224 $[(\text{MeO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CHOHCCH}_3]^+$ 取代了化合物 I 的 m/z 209 $[(\text{CH}_3\text{O})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3]^+$, 此为 7 位的一个 H 被羟基所取代。化合物 II 的立体化学是根据其 $^1\text{HNMR}$ (表 1) 和 $^{13}\text{CNMR}$ 谱 (表 2) 数据确定。通常在 8-O-4'-新木脂素中, 7 位羟基取代可能有 erythro 和 threo 两种异构体, 可根据 $^1\text{HNMR}$ 谱中 H-7 和 H-8 的偶合常数及 $^{13}\text{CNMR}$ 谱中 C-9 的化学位移来区别⁽⁴⁾。由于 7 位羟基与氧形成氢键, 当其 **为 erythro 构型** 时, H-7 和 H-8 夹角为 60 °, $J_{\text{H-7, H-8}} = 3.2$ Hz, C-9 的化学位移在相

本文于 1990 年 4 月 26 日收到。

* 国家自然科学基金资助项目

对高场(13 ppm); 而在 threo 构型中, H-7 和 H-8 夹角为 180° ; $J_{H-7, H-8} = 8 \text{ Hz}$, C-9 的化学位移在相对低场(17 ppm)。在化合物 II 中, $J_{H-7, H-8} = 8.3 \text{ Hz}$, C-9 的化学位移值为 17.8 ppm, 因此, 确定化合物 II 为 threo 构型。化合物 II 有 7 位、8 位两个不对称碳, 但未测出旋光活性, 又以不同波长(240 ~ 400 nm)测其 CD 谱, 皆为一直线, 因此, II 为一对对映体, 结构为 threo- Δ^7 -7-羟基-3, 4, 5, 3', 5'-五甲氧基-8-O-4'-新木脂素, 为新化合物, 命名为樟叶素 (polysyphorin)。

将化合物 II 乙酰化得化合物 IIa, 其红外光谱羟基吸收峰消失, 质谱中分子离子峰为 m/z 460, 证明化合物 II 只含一个羟基, 并被乙酰化。

Tab 1. ^1H NMR data of I, II, and IIa

Proton	I	II	IIa
H-2,6	6.47 s	6.57 s	6.56 s
H-7	3.15 dd (13.6, 5.6)(cis) 2.74 dd (13.6, 8.0)(trans)	4.58 d (8.3)	5.84 d (7.5)
H-8	4.40 m	3.96 ~ 3.98 m	4.45 dq (7.5, 6.0)
H-9	1.21 d (7.6)	1.20 d (7.5)	1.13 d (6.0)
H-2', 6'	6.57 s	6.59 s	6.60 s
H-7'	6.32 d (15.2)	6.35 d (15.7)	6.33 d (15.9)
H-8'	6.17 dq (15.2, 7.0)	6.18 dq (15.7, 7.0)	6.15 dq (15.9, 6.9)
H-9'	1.88 d (7.0)	1.85 d (7.0)	1.88 d (6.9)
MeO-3', 5'	3.81 s	3.90 s	3.86 s
MeO-4	3.82 s	3.82 s	3.83 s
MeO-3, 5	3.85 s	3.85 s	3.83 s
MeCO-			1.92 s

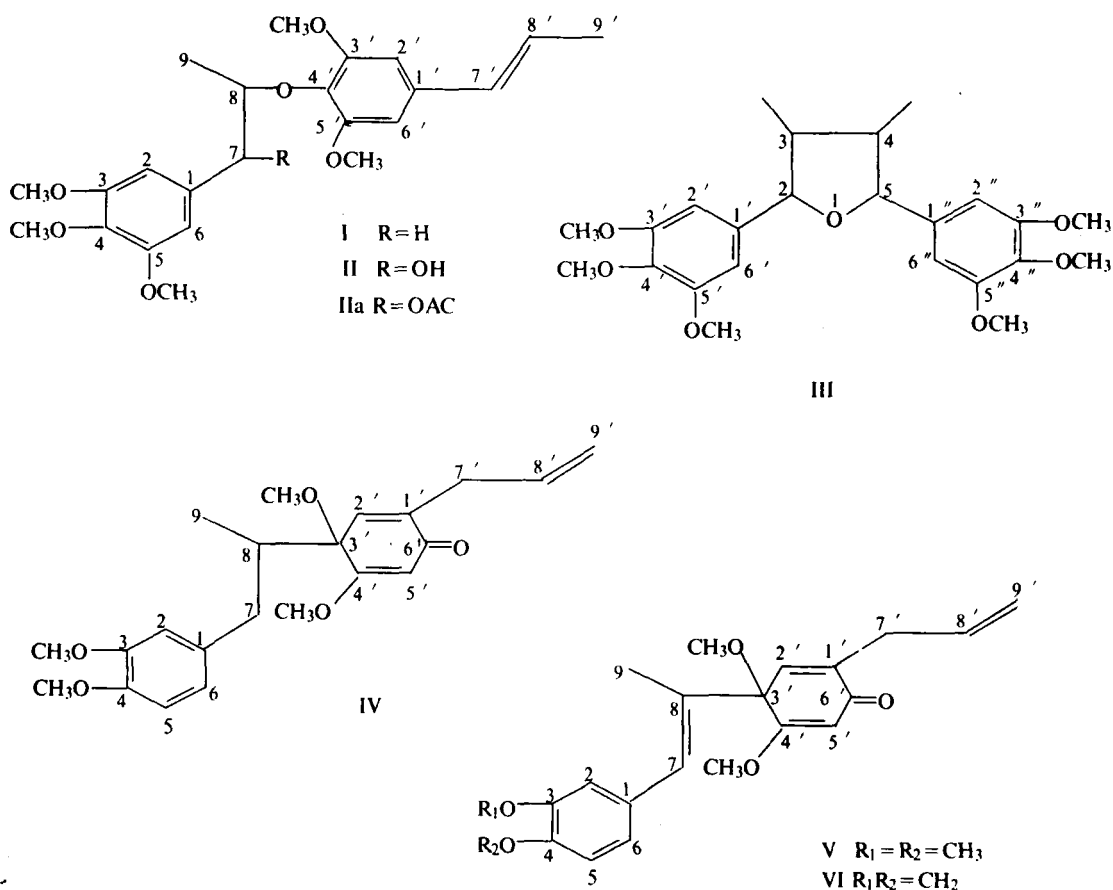
Chemical shifts in CDCl_3 are in ppm relative to internal TMS, coupling constants (Hz) in parentheses.

Tab 2. ^{13}C NMR data of I and II

Carbon	I	II	Carbon	I	II
C-1	125.3	125.6	C-1'	125.3	125.6
C-2	103.2	102	C-2'	106.7	104
C-3	153	152.9	C-3'	152.9	152.6
C-4	131	130.6	C-4'	131	130.6
C-5	153	152.9	C-5'	152.9	152.6
C-6	103.2	102	C-6'	106.7	104
C-7	43.9	86.4	C-7'	134.9	136.3
C-8	80.0	79.4	C-8'	133.6	133.7
C-9	18.6	17.8	C-9'	20.1	18.4
			MeO-4	61	61
			MeO-3, 5, 3', 5'	56.3	56.0

化合物 III, 无色棱晶, 高分辨质谱分子离子峰为 432.2144, 分子式 $C_{24}H_{32}O_7$ (计算值 432.2148)。其质谱裂解碎片 m/z 208 和 m/z 224 分别为 $[(MeO)_3C_6H_2CHCHCH_3]^+$ 和 $(MeO)_3C_6H_2CHOCHCH_3]^+$, 为典型的四氢呋喃类木脂素。化合物 III 的 1H NMR 谱与从植物 *litsea grandis* 中得到的 grandisin 完全相同⁽⁵⁾, 但旋光相反 [化合物 III $[\alpha]_D^{28}, +80.0^\circ$ ($CHCl_3$); grandisin $[\alpha]_D, -57.1^\circ$ ($CHCl_3$)]. 并测得化合物 III 的 CD 谱: $CD \lambda_{max}^{MeOH}$ (nm, $[\theta]$) $[\theta]_{220} 0, [\theta]_{237} +19080, [\theta]_{252} 0, [\theta]_{267} -2160, [\theta]_{296} -1260$. 因此, 表明化合物 III 为 grandisin 的对映体, 即 (+) - grandisin, 其构型待进一步确定。

化合物 IV 为无色油状, 其 1H NMR 与 MS 和 lancifolin D⁽⁶⁾ (8R, 3'R - Δ^8 - 3, 4, 3', 4' - 四甲氧基 - 3', 6' - 二氢 - 6' - 羰基 - 8, 3' - 新木脂素) 的基本相同, 但化合物 IV 的 CD 曲线在 247 nm 为负 cotton, 在 281 nm 为正 cotton, 与 lancifolin D 的相反⁽⁶⁾, 因此推测其 8 位为 S。文献报道, 8 - CH_3 与 3' - OCH_3 处于顺式时, 8 - CH_3 的化学位移在相对高场 (0.56 ppm)。经测得 IV 的 8 - CH_3 化学位移在相对低场 (0.94 ppm) 故推测 IV 的 8 - CH_3 与 3' - OCH_3 应处于反式⁽⁶⁾, 即化合物 IV 为 lancifolin D 的对映体, 结构为 8S, 3'S - Δ^8 - 3, 4, 3', 4' - 四甲氧基 - 3', 6' - 二氢 - 6' - 羰基 - 8, 3' - 新木脂素。



以 PAF 引起的血小板聚集实验⁽⁷⁾和受体结合实验⁽⁸⁾测定活性, 结果表明化合物 I ~ IV 和 V 都具有明显抑制 PAF 引起的血小板聚集作用(表 3), 在受体结合实验中(表 4), 化合物 II 和 V 活性较强。8-O-4'-新木脂素为首次报道具有 PAF 抑制活性的结构类型。

Tab 3. Inhibition of PAF induced platelet aggregation

Compound	Concentration μ mol/L	Inhibition (%)	IC ₅₀ μ mol/L
(+)-Virolongin (I)	25	72	14.0
Polysyphorin (II)	25	94	13.0
Polysyphorin acetate (IIa)	25	88	5.0
(+)-Gradisin (III)	25	79	13.9
(+)-Lancifolin D (IV)	25	95	4.0
Wallichinine (V)	25	91	11.0
Hancinone D (VI)	25	41	34.1

Tab 4. Inhibition of binding of PAF by compounds

Compound	Concentration μ mol/L	Inhibition (%)
(+) - Virolongin (I)	12.4	47
	1.24	8
Polysyphorin (II)	12.0	72
	1.20	16
Polysyphorin acetate (IIa)	10.0	56
(+) - Crandisin (III)	10.0	26
(+) - Lancifolin D (IV)	13.5	74
	1.35	18
Wallichinine (V)	13.6	89
	1.36	42
Hancinone D (VI)	14.0	57
	1.40	10

实 验 部 分

熔点用 Kofler 显微熔点仪测定, 未加校正; UV 谱用 Beckman DU-7 型仪测定; IR 谱用 PE-983G 型仪测定; MS 用 2AB-HS 质谱仪测定, NMR 谱用 Varian XL-300 和 Varian XL-400 型核磁共振仪测定; CD 谱用 Dichrograph 3 型仪测定; HPLC 用 Waters PRE-3000 型仪测定, 固定相为 μ -Bondapak C₁₈ 柱。层析用硅胶为青岛海洋化工厂出品。实验材料采自云南西双版纳州猛腊县, 诚静蓉教授鉴定植物样品。

一. 提取分离

樟叶胡椒地上部分 950 g, CH₂Cl₂ 室温提取, 提取液减压浓缩后得浸膏 20 g, 经硅胶柱层析, 石油醚—EtOAc 梯度洗脱, 洗脱液经 TLC 检视后合并得 F₁ ~ F₁₄ 四个部分。F₆ (1.08 g) 通过 ODS 反相柱层析, 制备 HPLC, MeOH—H₂O (70:30) 洗脱, 得化合物 I 50 mg 和化合物 VI 80 mg。F₈ (1.30 g) 经硅胶柱层析(环己烷—MeO₂ 洗脱); 制备 TLC (C₆H₆—Me₂CO) 和制备 HPLC (MeOH—H₂O), 得化合物 II 30 mg。F₉ (0.89 g) 用类似于 F₈ 的方法处理, 得化合物 III 2.8 mg, 化合物 IV 31 mg, 和化合物 V 35 mg。

二. 鉴定

化合物 I 无色油状物, $[\alpha]_D^{28} + 16.0^\circ$ (c 0.25, CHCl_3). UV λ_{\max} nm (log ϵ): 267.5 (4.28). IR (KBr) cm^{-1} : 2934, 1579, 1459, 1414, 1331, 1236, 1124. MS m/z (rel. int): 402 [M^+] (25), 324 (2.2), 209 (100), 194 (97), 181 (36), 163 (25), 151 (12), 105 (12), 91 (22). CD $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm, $[\theta]$): $[\theta]_{220} - 12634$, $[\theta]_{249} 0$, $[\theta]_{267} + 6030$, $[\theta]_{300} 0$. $^1\text{HNMR}$ 见表1, $^{13}\text{CNMR}$ 见表2.

化合物 II 无色棱晶, mp 147~148 $^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25}, 0^\circ$ (c 0.40 CHCl_3). UV λ_{\max} nm (log ϵ): 214 (4.64), 266 (4.26). IR (KBr) cm^{-1} : 3469 (OH), 2939, 1593, 1580, 1459, 1420, 1372, 1332, 1270, 1152, 1052, 974. MS m/z (rel. int): 418 [M^+] (2.5), 326 (1), 224 (8), 208 (7), 194 (100), 151 (12), 105 (12), 91 (15). $^1\text{HNMR}$ 见表1, $^{13}\text{CNMR}$ 见表2.

化合物 II 的乙酰化 化合物 II 4.8 mg 溶于 $\text{C}_3\text{H}_5\text{N}$ 0.7 ml 和 Ac_2O 0.7 ml, 室温搅拌 15 h, 反应液经处理得白色固体, 得化合物 IIa 5.0 mg. IR (KBr) cm^{-1} : 1735 (C=O). MS m/z (rel. int): 460 [M^+] (<5), 267 (20), 194 (100), 105 (10), 91 (10). $^1\text{HNMR}$ 见表1.

化合物 III $[\alpha]_D^{28}, +80.0^\circ$ (c 0.05, CHCl_3). MS m/z (rel. int): 432 [M^+] (12), 236 (18), 224 (68), 208 (100), 193 (19), 181 (17), 149 (18), 105 (15), 91 (18). $^1\text{HNMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 1.10 (6 H, d, J=6.1 Hz, CH_3 -3, 4), 1.78 (2H, dq, J=6.1, 9.1 Hz, H-3, 4), 3.84 (6H, s, OCH_3 -4', 4''), 3.89 (12 H, s, OCH_3 -3', 5', 3'', 5''), 4.65 (2 H, d, J=9.1 Hz, H-2, 5), 6.62 (4 H, s, H-2', 6', 2'', 6'').

化合物 IV 无色油状物, $[\alpha]_D^{18} + 28.57^\circ$ (c 0.21, Me_2CO). UV λ_{\max} nm (log ϵ): 204.5 (4.27), 231.5 (4.01), 281 (3.49). IR (KBr) cm^{-1} : 2934, 1661, 1633, 1606, 1510, 1457, 1261, 1156, 1140. MS m/z (rel. int): 372 [M^+] (9), 340 (4), 194 (18.8), 179 (100), 164 (12), 151 (52), 91 (15). $^1\text{HNMR}$ (300 MHz, CDCl_3): 0.94 (3 H, d, J=7 Hz, H-9), 1.98 (1 H, dd, J=10.8, 7.8 Hz, H-7 trans), 2.55 (1 H, dd, J=10.8, 3.9 Hz, H-7 cis), 2.40 (1H, m, H-8), 3.09 (3 H, s, OCH_3 -3'), 3.13 (2 H, d, J=6.6 Hz, 2H-7'), 3.70 (3 H, s, OCH_3 -4'), 3.81 (6 H, s, OCH_3 -3, 4), 5.10 (2 H, dd, J=10.2, 6.3 Hz, 2H-9'), 5.90 (1 H, m, H-8'), 5.68 (1 H, s, H-5'), 6.33 (1 H, s, H-2'), 6.53 (1 H, s, H-2), 6.55 (1H, d, J=7.5 Hz, H-5), 6.72 (1 H, d, J=7.5 Hz, H-6). $^{13}\text{CNMR}$ (75 MHz, CDCl_3): 14.3 (C-9), 33.4 (C-8), 37.6 (C-7'), 42.9 (C-7), 52.7 (OCH_3 -3'), 56.1 (OCH_3 -3, 4, 4'), 80.0 (C-3'), 106.0 (C-2), 111.2 (C-5'), 112.3 (C-5), 117.5 (C-9'), 121.1 (C-6), 133.2 (C-2'), 135.5 (C-8'), 139.2 (C-1), 141.5 (C-1'), 147.5 (C-3), 148.6 (C-4), 173.0 (C-4'), 186.0 (C-6'). CD $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm, $[\theta]$): $[\theta]_{210} 0$, $[\theta]_{223} + 4092$, $[\theta]_{240} 0$, $[\theta]_{247} - 1302$, $[\theta]_{252} 0$, $[\theta]_{281} + 7068$, $[\theta]_{342} 0$, $[\theta]_{365} + 614$.

化合物 V 无色油状物, $[\alpha]_D^{18}, 0^\circ$ (c 0.1, Me_2CO). MS m/z 370 (M^+ , 29). UV, IR, $^1\text{HNMR}$ 与南藤素 (wallichinine)⁽²⁾ 比较完全相同.

化合物 VI 无色油状物, $[\alpha]_D^{18}, 0^\circ$ (c 0.1, Me_2O). MS m/z 354 (M^+ , 21). UV, IR,

¹HNMR 与山蒺素 D (hancinone D)⁽²⁾比较完全相同。

致谢 云南西双版纳州药检所刀卫凉, 刀秀英同志协助采集植物原料。

参 考 文 献

1. 中国科学院中国植物志编辑委员会, 中国植物志. 第二十卷, 第一分册. 北京: 科学出版社, 1982: 27.
2. 韩桂秋, 等. 石南藤、山蒺抑制血小板活化因子活性成份的分离和结构鉴定. 药学报 1989; 24: 438.
3. Macrae WD, et al. Non-al kaloidal constituents of *Virola elongata* bark. *Phytochemistry* 1985; 21: 561.
4. Antonio C, et al. ¹³C-NMR spectral and conformational analysis of 8-O-4' neolignans. *Ibid* 1984; 23: 2025.
5. Holloway D, et al. Two lignans from *Litsea grandis* and *L. gracilipes*. *Ibid* 1974; 13: 1233.
6. Diazd P, et al. Neolignans from *Aniba lancifolia*. *Ibid* 1980; 19: 285.
7. 韩桂秋, 等. 石南藤 PAF 受体拮抗剂活性成份的分离和鉴定. 北京医科大学学报 1987; 19: 243.
8. Hwang SB, et al. Species difference in the specific receptor of platelet activating factor. *Biochem Pharmacol* 1986; 35: 4511.

NEOLIGNANS FROM *PIPER POLYSYPHORUM* C. DC

Y. Ma, GQ Han, CL Li, JR Cheng, BH Arison* and SB Hwang*

(School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University, Beijing 100083; * Merck Sharp & Dohme Research Lab. Rahway, NJ 07065, USA)

ABSTRACT *Piper polysyphorum* C. DC (Piperaceae) is indigenous to the southern part of China. In the course of screening for inhibitors of platelet activating factor (PAF), the nonpolar fraction was found to exhibit PAF inhibitory activity. One new neolignan named polysyphorin and three new enantiomeric forms of (+) - virolongin, (+) - grandisin and (+) - lancifolin D were isolated. Two known neolignans, wallichinine and hancinone D were also obtained from the same sources. The structure determination was based upon spectroscopic analysis (UV, IR, CD, MS, ¹HNMR, ¹³CNMR, COSY) and derivative preparation. The structure for polysyphorin was established as threo- Δ^7 -7-hydroxy-3,4,5,3',5'-pentamethoxy-8-O-4'-neolignan. It is a racemic enantiomer. The PAF inhibitory activities were reported.

Key words *Piper polysyphorum*; Neolignans; Polysyphorin; PAF