

化合物Ī : 白色针状结晶(EtOAc), mp 137~138 °C, Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Molish 反应呈阴性。与 B 谷甾醇共薄层, Rf 值及显色行为完全一致, 混合熔点不下降。IR $\bar{\nu}_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$: 3 438, 2 934, 2 889, 1 655, 1 640, 1 379, 1 051, 1 020, 955, 798。EI-MS (m/z): 415[M+ H]⁺, 397[M- OH]⁺。故确定化合物Ī 为 B 谷甾醇。

化合物Đ : 白色粉末, 极性较大, 难溶于丙酮、甲醇, 易溶于吡啶。浓硫酸乙醇显色为紫红色, 与胡萝卜苷标准品进行 TLC 对照, 在多种溶剂系统中 Rf 值均一致, 且混合熔点不下降, 所以确定其为 B 胡萝卜苷(daucosterol)。¹H-NMR 数据与文献一致^[8]。

化合物Ñ : 白色粉末。IR、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据与文献值^[7] 相比较, 确定化合物Ñ 的结构为豆甾醇。

化合物Ò : 白色粉状结晶(MeOH), mp 277~279 °C, Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性。薄层酸水解检出葡萄糖。NMR 数据与文

献中的 \$5, 22\$ 豆甾醇-3-O-BD-吡喃葡萄糖苷对照基本一致^[9]。

参考文献:

- [1] 胡熙明, 张文康, 朱庆生. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] Pousset J L, Poisson J. Vomifoliol: terpene alcohol isolated from leaves of Rauwolfia vomitoria Ahz [J]. Tetrahedron Lett. 1969, 15: 1173-1174.
- [3] Kinjo J E, Furusawa J I, Baba J, et al. Studies on the constituents of Pueraria lobata. Isoflavonoids and related compounds in the roots and voluble stems [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35: 4846-4848.
- [4] 王国艳, 吴 强, 林平川, 等. 紫菀酚类化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(10): 946.
- [5] 李建北, 丁 怡. 香青兰化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(10): 697-698.
- [6] 洪永福, 江贞仪, 宋文萍, 等. 金剛蒿的化学成分研究 [J]. 第二军医大学学报, 1990, 11(1): 28-31.
- [7] 李作平, 张 丽, 刘伟娜, 等. 合欢花化学成分的研究(Ē) [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(5): 585-587.
- [8] Kojima H, Sato N, Hatano A, et al. Sterol glucosides from P. runcellata [J]. Phytochemistry, 1990, 29(7): 2351-2355.
- [9] 杨培明, 罗思齐. 金腰箭化学成分的研究 [J]. 中国医药工业杂志, 1994, 25(6): 252-255.

萆薢化学成分的研究(É)¹

吴 霞¹, 于志斌², 叶蕴华¹, 周亚伟^{2*}

(1. 北京大学化学与分子工程学院 生物有机与分子工程教育部重点实验室, 北京 100871;

2. 北大世佳研究中心, 北京 100084)

摘要: 目的 对萆薢 *Piper longum* 的化学成分进行研究, 为阐明其有效成分提供依据。方法 利用硅胶、反相 C₁₈ 和凝胶柱色谱对萆薢 95% 乙醇提取物的二氯甲烷和醋酸乙酯萃取部分进行化学成分分离, 根据光谱数据和理化性质鉴定各化合物的结构。结果 分离到 10 个化合物, 分别是胡椒碱(É)、methyl piperate(Ê)、几内亚胡椒碱(Ë)、苯丙酸(Ī)、胡椒次碱(Í)、胡椒新碱(Î)、墙草碱(Ï)、(E)-4-[(2-methylpropyl) amino]-4-oxo-2-butenic acid (Ð)、piperonaline(Ñ)、B 谷甾醇(Ò)。

关键词: 萆薢; 生物碱; 苯丙酸

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0178-03

萆薢为胡椒科植物萆薢 *Piper longum* L. 的未成熟的果穗。收载于《中国药典》2005 年版, 主要产于印度尼西亚、菲律宾、越南, 我国云南有野生, 海南岛有栽培。临床用于胃痛、腹泻、脚气、目盲、龋齿痛等^[1]。维吾尔医用于寒性关节骨痛、腰膝酸痛、胃虚食少、肝脾闭阻, 配合其他药可治癫痫昏迷, 是维吾尔医常用的药材品种, 收载于《中华人民共和国药品标准维吾尔药分册》^[2]。萆薢果实的提取物常用作抗

炎、杀菌剂, 早期的研究表明胡椒科的植物中具有杀菌作用的活性成分为酰胺类化合物^[3]。近年来的药理学研究表明, 萆薢的乙醇提取物及其所含的胡椒碱具有免疫调节和抗肿瘤作用。本实验进行了萆薢的水及 95% 乙醇提取物对小鼠 H₂₂ 肝癌实体瘤的影响实验, 结果表明萆薢 95% 醇提取物(20 g 生药/kg) 对小鼠瘤重与荷瘤对照组比较明显降低, 差异具有显著性(P < 0.05), 抑瘤率为 41.55%。为了阐

¹ 收稿日期: 2007-08-05

作者简介: 吴 霞(1967-), 女, 安徽省桐城市人, 博士, 副研究员, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: wuxia6710@163.com

* 通讯作者 周亚伟 Tel: (010)62538007 Fax: (010)62538501 E-mail: ywzhou@pku.edu.cn

明萆薹抗肿瘤的活性成分, 本实验对萆薹进行了化学成分的研究, 从其 95% 乙醇提取物中得到 10 个化合物, 根据光谱数据和理化性质测定, 分别鉴定为胡椒碱(\hat{E})、methyl piperate(\hat{E})、几内亚胡椒碱(\hat{E})、苯丙酸(\hat{I})、胡椒次碱(\hat{I})、胡椒新碱(\hat{I})、墙草碱(\hat{I})、(E)-4-[(2-methylpropyl) amino]-4-oxo-2-butenic acid(\hat{D})、piperonaline(\hat{N})、B 谷甾醇(\hat{O})。其中化合物 \hat{E} 、 \hat{I} 和 \hat{D} 为首次从该种植物中分离得到。

1 仪器与材料

Yanaco MP-500 型显微熔点测定仪; Bruker ARX-400 MHz 超导核磁共振仪, 内标为 TMS; Finnigan LCQ deca XP Plus 型质谱仪(San Jose CA); 高效薄层板 GF₂₅₄ 为烟台市化学工业研究所烟台化工科技开发实验厂产品; 柱色谱硅胶(100~200 目, 200~300 目)均为青岛海洋化工厂产品; 反相 C₁₈ 硅胶为德国 Merck 公司产品; Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品; 所用试剂均为分析纯。萆薹于 2006 年 3 月购自新疆乌鲁木齐维吾尔药材市场, 由新疆药物研究所刘庆华研究员鉴定为萆薹 *Piper longum* L. 的果穗。

2 提取与分离

萆薹干燥果穗 15 kg, 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1 h, 滤过, 合并滤液, 回收乙醇得浸膏 1.0 kg, 将浸膏溶于适量的水中, 依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯及正丁醇萃取, 对得到的二氯甲烷萃取物(252 g)以氯仿-甲醇溶剂系统经硅胶柱色谱、甲醇-水系统经反相硅胶柱色谱及反复 Sephadex LH-20 柱色谱得到化合物 \hat{E} (2.2 g)、 \hat{E} (500 mg)、 \hat{E} (2 g)、 \hat{I} (3 g)、 \hat{N} (300 mg)、 \hat{O} (20 mg)。对醋酸乙酯萃取物(65 g)以氯仿-甲醇溶剂系统经硅胶柱色谱、甲醇-水系统经反相硅胶柱色谱及反复 Sephadex LH-20 柱色谱和重结晶等手段分离得到化合物 \hat{I} (60 mg)、 \hat{I} (60 mg)、 \hat{I} (25 mg)、 \hat{D} (40 mg)。

3 结构鉴定

化合物 \hat{E} : 无色方晶(甲醇), mp 135~136 °C。碘化铯钾反应阳性。ESI-MS m/z : 286[M+H]⁺, 308[M+Na]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ 6.43(1H, d, J=14.6 Hz, H-2), 7.40(1H, m, H-3), 6.72(1H, m, H-4), 6.74(1H, m, H-5), 6.97(1H, d, J=1.4 Hz, H-2'), 6.77(1H, d, J=8.0 Hz, H-5'), 6.88(1H, dd, J=8.0, 1.4 Hz, H-6'), 5.96(2H, s, -O-CH₂-O-), 3.57(2H, br. s, H-1'), 1.60(2H, m, H-2'), 1.66(2H, m, H-3'), 1.60(2H, m, H-4'), 3.57

(2H, br. s, H-5')。¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ 165.4(C-1), 120.0(C-2), 142.4(C-3), 125.3(C-4), 138.2(C-5), 131.0(C-1'), 105.6(C-2'), 148.0(C-3'), 148.0(C-4'), 108.4(C-5'), 122.5(C-6'), 101.2(-O-CH₂-O-), 43.2(C-1'), 26.2(C-2'), 24.6(C-3'), 26.2(C-4'), 46.7(C-5')。以上¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据与文献报道一致^[3], 故鉴定为胡椒碱。

化合物 \hat{E} : 无色针晶(甲醇), mp 148~150 °C。ESI-MS m/z : 255[M+Na]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ 5.94(1H, d, J=14.6 Hz, H-2), 5.98(2H, s, -OCH₂O-), 6.69(1H, dd, J=15.6, 4.8 Hz, H-4), 6.74(1H, m, H-5), 7.00(1H, d, J=1.8 Hz, H-2'), 6.79(1H, d, J=7.8 Hz, H-5'), 6.81(1H, d, J=15.6 Hz, H-5), 6.92(1H, dd, J=8.1, 0.6 Hz, H-6'), 6.98(1H, d, J=0.6 Hz, H-2'), 7.43(1H, dd, J=15.3, 10.8 Hz, H-3), 3.76(3H, s, -OCH₃)。¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ 167.5(C-1), 119.9(C-2), 144.9(C-3), 124.4(C-4), 140.2(C-5), 130.5(C-1'), 105.8(C-2'), 148.5(C-3'), 148.2(C-4'), 108.5(C-5'), 122.9(C-6'), 101.3(-O-CH₂-O-), 51.5(-OCH₃)。以上¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据与文献报道一致^[4], 故鉴定为 methyl piperate。

化合物 \hat{E} : 白色针晶(石油醚-丙酮 3:1), mp 115~117 °C。碘化铯钾反应阳性。¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据与文献报道一致^[3], 故鉴定为几内亚胡椒碱。

化合物 \hat{I} : 白色腊状物, mp 72~74 °C。ESI-MS m/z : 173[M+Na]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 400 MHz) δ 7.30(2H, m, H-2', 6'), 7.22(3H, m, H-3', 4', 5'), 2.96(2H, t, J=7.8 Hz, H-2), 2.69(2H, t, J=7.8 Hz, H-3)。¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ 179.2(C-1), 35.6(C-2), 30.5(C-3), 140.1(C-1'), 128.2(C-2'), 128.5(C-3'), 126.3(C-4'), 128.5(C-5'), 128.2(C-6')。根据¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据及质谱, 鉴定为苯丙酸。

化合物 \hat{I} : 白色针晶(甲醇), mp 80~82 °C。碘化铯钾反应阳性。¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据与文献报道一致^[5], 故鉴定为胡椒次碱。

化合物 \hat{I} : 无色针晶(甲醇), mp 112~115 °C。碘化铯钾反应阳性。¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据与文献报道一致^[3], 故鉴定为胡椒新碱。

化合物 \hat{I} : 无色针晶(甲醇), mp 120~123 °C。碘化铯钾反应阳性。¹H-NMR 和¹³C-NMR 数据与文

献报道一致^[3], 故鉴定为墙草碱。

化合物D: 无色针晶(甲醇), mp 135~136 °C。碘化铋钾反应阳性。ESI-MS m/z : 170[M- H]⁺。¹H-NMR(DMSO-d₆, 400 MHz) δ: 8.51(1H, br. s, -COOH), 6.53(1H, d, J= 15.5 Hz, H-2), 7.01(1H, d, J= 15.5 Hz, H-3), 3.01(2H, t, H-1'), 1.74(1H, m, H-2'), 0.86(6H, d, J= 6.6 Hz, H-3', 4')。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 100 MHz) δ: 166.4(C-1), 129.4(C-2), 137.1(C-3), 163.0(C-4), 46.3(C-1'), 27.9(C-2'), 20.0(C-3', 4')。以上¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献报道一致^[4], 故鉴定为(E)-4-[(2-methylpropyl) amino]-4-oxo-2-butenoic acid。

化合物N: 白色针晶(石油醚-丙酮3:1), mp 125~127 °C。碘化铋钾反应阳性。¹H-NMR和¹³C-NMR数据与文献报道一致^[3], 故鉴定为 piper-nonaline。

化合物O: 白色针晶(醋酸乙酯), mp 135~138 °C。易溶于氯仿、醋酸乙酯, 难溶于甲醇。与对照品B谷甾醇共薄层, R_f值与显色行为完全一致, 混合熔点不下降, 故鉴定为B-谷甾醇。

参考文献:

- [1] 刘佑波, 徐新春. 荜茇的本草考证[J]. 中草药, 2001, 32(12): 1127.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准维吾尔药分册[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999.
- [3] Wu S H, Sun C R, Pei S F, et al. Preparative isolation and purification of amides from the fruits of *Piper longum* L. by upright counter-current chromatography and reversed-phase liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2004, 1040: 193-204.
- [4] Takao N, Mikinao T, Reiko I, et al. Studies on the constituents of *Piper hancei* of Spice Okinawa[J]. J Nat Med, 1995, 49(4): 438-441.
- [5] Jacobs H, Seeram N, Nair M, et al. Amides of *Piper amalago* var. *nigrinodum* [J]. J Indian Chem Soc, 1999, 76: 713.

高效液相色谱-电喷雾-质谱法分析山茱萸中的化学成分¹

赵新峰¹, 孙毓庆²

(1. 大连大学医学院, 辽宁 大连 116622; 2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立山茱萸中化学成分的高效液相色谱-电喷雾-质谱分析方法。方法 采用Zorbax SB-C₁₈色谱柱, 乙腈-水二元梯度洗脱; Agilent 电喷雾离子阱多级质谱仪; 负离子检出模式。结果 在负离子检出模式下, 山茱萸的总离子流色谱图特征性很强, 通过质谱中的主要碎片对莫罗忍冬苷、山茱萸裂苷、没食子酸、1, 2, 3-三-O-没食子酰葡萄糖和1, 2, 3, 6-四-O-没食子酰葡萄糖5种主要成分进行了结构解析。结论 在质谱负离子检出模式下, 多数化学成分响应较好, 为山茱萸药材质量控制提供了一种新的方法。

关键词: 高效液相色谱-电喷雾-质谱法; 山茱萸; 莫罗忍冬苷; 山茱萸裂苷; 没食子酸; 1, 2, 3-三-O-没食子酰葡萄糖; 1, 2, 3, 6-四-O-没食子酰葡萄糖

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)02-0180-03

山茱萸为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb et Zucc. 的干燥果肉, 有补益肝肾、收敛固脱的功效, 主治头晕目眩、耳聋耳鸣、腰膝酸软、遗精滑精、小便频数、虚汗不止、妇女崩漏。山茱萸中主要含有糖苷类、鞣质类、有机酸和挥发性成分。苷类成分主要有番木鳖苷(loganin)、莫罗忍冬苷(morroneoside)、7-O-甲基莫罗苷(7-O-methyl-morroneoside)、山茱萸裂苷(cornuside)等, 有机酸类成分主要有熊果酸(ursolic acid)、没食子酸(gallic acid)等。目前, 对山茱萸的质量控制有高效液相色谱^[1, 2]、

毛细管电泳^[3]等方法, 尚未见有液质联用分析方法的报道。

与传统的紫外检测器、电化学检测器、激光诱导荧光检测器等相比, 质谱检测器具有信息量更丰富、应用范围更广等优势, 目前在中药分析中得到了广泛的认可和越来越多的应用^[4~7]。本实验对山茱萸进行了HPLC-MS分析, 对其中的6种化学成分进行了质谱解析。在质谱负离子检出模式下, 多数化学成分响应较好, 与传统的仅检测某一化学成分相比, 更能真实客观地反映山茱萸的内在质量, 为山茱萸

¹ 收稿日期: 2007-06-12

作者简介: 赵新峰(1976-), 男, 博士, 主要从事药品的质量控制分析方法研究。

Tel: (0539) 5030588 E-mail: zhaoxinfengwy@21cn.com