

# 竹叶椒抑制血小板活化因子 (PAF)的活性成分

洪美芳

(南京中医学院, 南京 210029)

潘竞先 郝美荣 姚冰 韩桂秋

(北京医科大学药学院, 北京 100083)

**摘要** 自芸香科花椒属植物竹叶椒(*Zanthoxylum planispinum* Sieb. et Zucc.)根和茎的石油醚及二氯甲烷提取物中分离得到5个化合物(I~V), 经物理常数测定, 光谱(UV, IR, <sup>1</sup>HNMR, MS)分析分别鉴定, I为β-香木脂醇, II为β-谷甾醇, III为L-细辛脂素, IV为L-竹叶椒脂素, V为花椒明碱。其中III, IV, V具有抑制PAF聚集的活性, 以IV活性最强, III次之, V较弱。花椒明碱首次从该植物中分离得到。

**关键词** 竹叶椒; L-竹叶椒脂素; PAF

**The active constituents of platelet-activating factor (PAF) inhibitors from *Zanthoxylum planispinum* Sieb. et Zucc.** Hong Mei-Fang (Nanjing College of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029), Pan Jing-Xian, Hao Mei-Rong, Yao Bing and Han Gui-Qiu (School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University, Beijing 100083), *J. Plant Resour. & Environ.* 1993, 2(2): 25~27

Five compounds were isolated from the petroleum ether and methylene chloride extracts of the roots and stems of *Zanthoxylum planispinum* Sieb. et Zucc. (Rutaceae). The structure of these compounds were determined on the basis of physical constant and UV, IR, <sup>1</sup>HNMR, MS spectral analysis. They are β-amyrin (I), β-sitosterol (II), L-asarinin (III), L-planinin (IV) and zanthobungeanine (V) respectively. Compound III, IV, V showed obviously inhibitory activity to platelet aggregation caused by PAF, among them compound III was less active than compound IV, compound V was the least. Zanthobungeanine was isolated for the first time from this plant.

**Key words** *Zanthoxylum planispinum* Sieb. et Zucc.; L-planinin; PAF

## 引 言

竹叶椒(*Zanthoxylum planispinum* Sieb. et Zucc.)系芸香科花椒属植物, 主要分布在我国南方各省, 江苏具有丰富资源, 据文献<sup>[1]</sup>记载, 竹叶椒具有活血止痛, 祛风除湿等功效。血小板活

化因子(Platelet Activating Factor 简称 PAF)是由多种炎症细胞和血小板产生和分泌的一种与炎症、心血管及呼吸系统疾病有关的内源性活性物质。为了寻找 PAF 拮抗剂,以 PAF 引起的血小板聚集实验为指标,发现竹叶椒根和茎的二氯甲烷提取物有明显的 PAF 抑制活性(终浓度为  $16 \mu\text{g/ml}$ , 抑制率为 71%)。本文对竹叶椒根和茎的二氯甲烷提取物进行活性成分分离,从二氯甲烷的二氯甲烷提取物中经硅胶柱层析,制备薄层层析分离得到 5 个单体,经物理常数测定,光谱(UV, IR,  $^1\text{H NMR}$ , MS)分析,分别鉴定 I 为  $\beta$ -香木脂醇, II 为  $\beta$ -谷甾醇, III 为 L-细辛脂素, IV 为 L-竹叶椒脂素, V 为花椒明碱。其中 IV 抑制 PAF 聚集活性最强, III 次之, V 作用最弱,其  $\text{IC}_{50}$  分别为  $2.2 \times 10^{-6} \text{m/l}$ ,  $4.5 \times 10^{-5} \text{m/l}$  及  $1.0 \times 10^{-4} \text{m/l}$ 。本属植物崖椒根的活性成分也进行过研究<sup>[9]</sup>,表明也有这方面的功效。

## 实 验 部 分

熔点用 Kofler 显微测熔仪(温度计未校正),红外光谱用 PE-983G 型红外光谱仪测定,紫外光谱用 UV-Du-7 型紫外光谱仪测定,  $^1\text{H}$  核磁共振谱用 Varian XL-300 型核磁共振仪测定,质谱用 2AB-HS 型质谱仪测定,薄层层析硅胶为青岛海洋化工厂出品,柱层析为山东即墨县化学试剂厂出品闪式硅胶。实验材料于 1990 年 9 月采集江苏宜兴太华山砾山上。

### 1. 提取和分离

竹叶椒根和茎 850 g, 二氯甲烷浸泡 4 次(24 h/次), 得总提取物 7 g, 以减压柱层析粗分得石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯和甲醇提取物, 分别进行 PAF 活性测定, 以二氯甲烷部分活性最高(86%, 终浓度  $16 \mu\text{g/ml}$ ), 得浸膏 4 g, 继续分离先用减压柱层析, 柱层析在石油醚中得到化合物 I, 然后采用石油醚/乙酸乙酯梯度洗脱, 在石油醚/乙酸乙酯 39:1 中得到化合物 II, 在 29:1 中得到化合物 III 和 V, 在 19:1 中得到 IV, 然后再反复进行制备薄层层析, 得到各单体化合物。

### 2. 鉴定

化合物 I  $\beta$ -香木脂醇,  $\beta$ -amyrin

无色针晶(MeOH), mp:  $195^\circ \sim 196^\circ \text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +54.4^\circ$  ( $C=0.27$ ,  $\text{CHCl}_3$ ), UV 254 nm 无吸收。IR  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$  3295 (-OH), 2919 ( $> \text{C}=\text{C} <$ )。EI-MS  $m/z$  (%) 426 ( $\text{M}^+$ , 8.5%), 218 (100%)。  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )<sup>[2,6]</sup>  $\delta$  ppm: 0.79~1.26 (24H, m,  $8 \times \text{CH}_3$ ), 1.62~2.30 (23H, m), 3.23 (1H, m,  $> \text{CH}-\text{OH}$ ), 5.18 (1H, t,  $J=3.3 \text{ Hz}$ ,  $-\text{CH}=\text{C} <$ ), 以上数据与文献<sup>[6]</sup>接近。

化合物 II  $\beta$ -谷甾醇,  $\beta$ -sitosterol

白色片晶(EtOH), mp:  $136^\circ \sim 137^\circ \text{C}$ , 根据颜色反应, 与标准品的薄层层析及红外光谱和标准品叠谱。说明此化合物为  $\beta$ -谷甾醇<sup>[6]</sup>。

化合物 III L-细辛脂素, L-asarinin

无色针晶(MeOH), mp:  $120 \sim 121^\circ \text{C}$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -52.45$  ( $C=0.143$ ,  $\text{CHCl}_3$ )。EI-MS  $m/z$  (%) 354 ( $\text{M}^+$ , 29%), 149 (100%)。UV  $\nu_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  nm, 207.6, 236.7, 285.5。  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 2.88 (1H, m,  $\text{C}_1\text{-H}$ ), 3.30 (2H, m,  $\text{C}_4, \text{C}_5$  各 1H), 3.79~3.85 (2H, m,  $\text{C}_4, \text{C}_8$  各 1H), 4.1 (1H, d,  $J=10.2 \text{ Hz}$ ,  $\text{C}_8\text{-H}$ ), 4.39 (1H, d,  $J=7.2 \text{ Hz}$ ,  $\text{C}_6\text{-H}$ ), 4.83 (1H, d,  $J=5.4 \text{ Hz}$ ,  $\text{C}_2$ -

H), 5.96 (2H, -O-CH<sub>2</sub>-O-), 5.95 (2H, -O-CH<sub>2</sub>-O-), 6.80~6.87 (6H, m, 芳 H), 以上数据与文献<sup>[7]</sup>接近。

化合物Ⅳ L-竹叶椒脂素, L-planinin

无色针晶(MeOH), mp: 136°~137°C,  $[\alpha]_D^{25}$  -92.2°(C=0.27, CHCl<sub>3</sub>)。UV<sub>max</sub><sup>MeOH</sup> λ nm 213.6, 233.4, 283.5。EI-MS m/z (%) 370 (M<sup>+</sup>), 149 (100%)。<sup>1</sup>HNMR(CDCl<sub>3</sub>), δ ppm; 2.89(1H, m, C<sub>1</sub>-H), 3.32(2H, m, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>各1H), 3.79~3.85(2H, m, C<sub>4</sub>, C<sub>8</sub>各1H), 4.12(1H, d, J=9.3 Hz, C<sub>8</sub>-H), 3.92(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.88(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 4.42(1H, d, J=6.7 Hz, C<sub>6</sub>-H), 4.88(1H, d, J=5.4 Hz, C<sub>2</sub>-H), 5.95(2H, s, -O-CH<sub>2</sub>-O-), 6.72~6.93(6H, m, 芳 H), 以上各数据与文献<sup>[2]</sup>接近。

化合物Ⅴ 花椒明碱, zanthobungeanine

黄色油状物。UV<sub>max</sub><sup>MeOH</sup> λ nm 204, 222, 250, 334, 354, 366。IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 1647(> N-C=O)。EI-MS m/z (%) 271 (M<sup>+</sup>, 38%), 256(M-15, 100%)。<sup>1</sup>HNMR(CDCl<sub>3</sub>) δ ppm; 1.50(6H, s, 2×CH<sub>3</sub>), 3.85(3H, s, N-CH<sub>3</sub>), 3.92(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 5.53(1H, d, J=9.6 Hz, α-H), 6.75(1H, d, J=9.6 Hz, β-H), 7.04(1H, d, J=7.2 Hz, 芳 Hc), 7.14(1H, t, J=7.2, 7.8 Hz, 芳 Hb), 7.59(1H, d, J=7.8 Hz, 芳 Ha), 以上数据与文献<sup>[4]</sup>接近。

### 3. PAF引起血小板聚集实验<sup>[3,8]</sup>

取抗凝兔血, 离心分离富血小板血浆(PRP), 于比浊小管内加入一定量 PRP, 以亚最大剂量的 PAF 为致聚剂量引起血小板聚集(最大聚集度为 100%), 观察样品对 PAF 所致聚集的影响, 根据抑制曲线求其 IC<sub>50</sub>。化合物Ⅲ、Ⅳ和Ⅴ的 IC<sub>50</sub>分别为 4.5 × 10<sup>-5</sup>m/l, 2.2 × 10<sup>-6</sup>m/l 和 1.0 × 10<sup>-4</sup>m/l。

**致谢** 药材由南京中医学院植物学教研室谈献和讲师鉴定, 天然药物及仿生药物国家重点实验室测定 UV, IR, <sup>1</sup>HNMR 谱, 北京医科大学波谱分析中心室测质谱, 在此一并致谢。

### 参 考 文 献

- 1 全国中草药汇编编写组. 1978: 全国中草药汇编下册, 人民卫生出版社, 北京. 258 页.
- 2 陈瑾, 耿桂兰, 叶光华等. 1988; 药学报 23(6): 422~425.
- 3 韩桂秋, 黄葵, 魏丽华等. 1987; 北京医科大学学报 19(4): 243~245.
- 4 任丽娟, 谢风指. 1981; 药学报 16(9): 672~676.
- 5 国家医药管理局中草药情报中心站. 1986: 植物药有效成分手册, 人民出版社, 北京. 940 页.
- 6 石井 永, 石川 勉, 萩庭丈寿. 1977; 药学杂志 97(8): 890~900.
- 7 石井 永, 细谷藤弘, 石川 勉等. 1974; 药学杂志 94(3): 309~321.
- 8 Hwang S B, C S Lee, M J Cheah. 1983; *Biochemistry* 22: 4756.
- 9 Hong M F, J X Pan, T Y Jiang. 1992; *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences* (1): 13~19.

(责任编辑: 管晓春)