

山莓化学成分研究

邬美玉(上海市奉贤区中心医院,上海 201400)

[摘要] 目的 对山莓的化学成分进行研究。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex-20 柱色谱、重结晶,并经高效液相色谱等技术提取分离山莓的化学成分,用 UV、IR、EI-MS、ES-MS 及 NMR 等光谱方法鉴定化合物结构。结果 从山莓乙醇提取物的石油醚部位分离得到化合物 1~6, 分别鉴定为豆甾醇(1)、 β -谷甾醇(2)、胡萝卜苷(3)、Homofukinolide (4)、Bakkenolide-B (5)、Bakkenolide-D(6);从二氯甲烷部位分离得到化合物 7~10, 分别鉴定为 4-羟基-3-甲氧基苯甲酸(7)、芹菜素(8)、木樨草素(9)、山莓素(10)。结论 化合物 4、5、6、7、8、9 首次从山莓子中分离得到,化合物 10 是新化合物。

[关键词] 山莓;化学成分;提取分离;结构鉴定

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)04-0287-04

Study on chemical constituents in *Rubus corchorifolius*

WU Mei-Yu (The Central Hospital of Fengxian District, Shanghai 201400, China)

[Abstract] **Objective** To study the chemical constituents in *Rubus corchorifolius*. **Methods** Chromatography on silica gel column, Sephadex LH-20 column, recrystallization and preparative HPLC technique were used to isolate and purify the compounds. Spectroscopy methods including UV, IR, EI-MS, ES-MS and NMR were used to elucidate the structures of compounds. **Results** Ten compounds were obtained and identified as: stigmasterol (1), beta-sitosterol (2), daucosterol (3), 4-hydro-3-methylbenzal acid (4), apigenin (5), luteolin (6), Homofukinolide (7), Bakkenolide-B (8), Bakkenolide-D (9), 3,5,9-trihydroxy-7,8-dihydrocyclopenta [g]chromene-2,6-dione(10). **Conclusion** Compound 4, 5, 6, 7, 8, 9 were isolated from *Rubus corchorifolius* for the first time. Compound 10 was a new compound.

[Key words] *Rubus corchorifolius*; chemical constituent; isolation; structure identification

山莓 *Rubus corchorifolius* L. f. 是蔷薇科悬钩子属 *Rubus* L. 中的一种落叶灌木。广泛分布在我国除东北、内蒙古、新疆、西藏外的其他各省、市、自治区,在海拔 300~1 500 m 的向阳山坡、溪边、山谷、荒地和灌木丛中大量生长^[1]。民间常将果实作为覆盆子的代用品,属温肾助阳药,具有补肾固精、助阳缩尿的功能,用于肾虚遗尿、小便频数、阳痿早泄、遗精、滑精等。现代药理学研究显示,山莓具有清热利咽、解毒、消肿、敛疮等作用,主治咽喉肿痛、多发性脓肿、乳腺炎等症。国内外学者对其化学成分进行一些研究,从中分离出香豆素、茶多酚、鞣质、生物碱、黄酮类等化合物^[2,3]。但是并未找到山莓温肾助阳药效的物质基础。因此继续研究山莓的化学成分,并在此基础上寻找具有温肾助阳活性成分,对补肾药物的开发具有重要意义。本研究对山莓的化学成分进行了较系统地研究,从中得到了 10 个化合物,其中化合物 4、5、6、7、8、9 首次从山莓中分离得到,山莓素(10)是新化合物。

1 材料与仪器

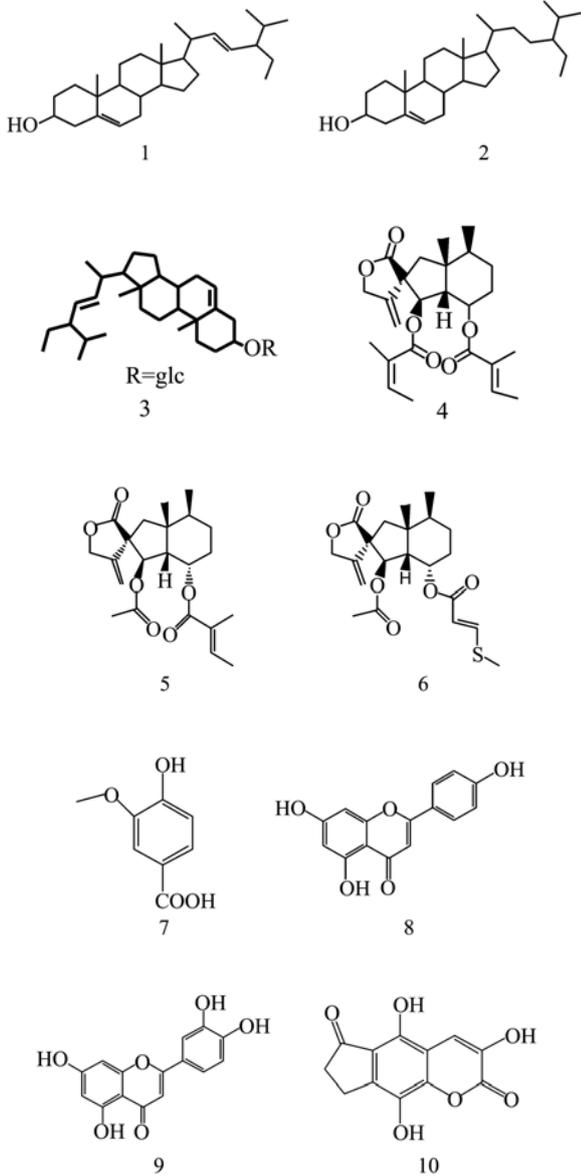
1.1 仪器和试剂 ZMD83-1 型电热熔点测定仪(上海精密仪器仪表公司);R205 型旋转蒸发器(上海申生科技有限公司);Bruker DEX-400 型核磁共振仪[四甲基硅烷(TMS)为内标,德国布鲁克公司];Varian MAT-212 质谱仪(美国瓦里安公司);Sephadex LH-20(上海安玛西亚技术有限公司);薄层层析以及主层析所用硅胶均为青岛海洋化工集团公司产品;所用试剂均为分析纯(上海国药化学试剂有限公司)。

1.2 材料 山莓采自福州城郊高盖山,经山东中医药大学药学院周长征副教授鉴定为蔷薇科悬钩子属植物山莓 *Rubus corchorifolius* L. f. 干燥成熟果实。

1.3 提取和分离 取山莓干燥果实 20 kg,75%乙醇渗漉提取 6 次,合并渗漉液,减压浓缩至无醇味,得到的混悬液依次用石油醚、二氯甲烷萃取,合并萃取液,减压浓缩,分别得到各部位干浸膏:石油醚部分 80 g,二氯甲烷部分 220 g。石油醚部分(80 g)经反复硅胶柱层析,石油醚-乙酸乙酯系统(30:1~1:1)梯度洗脱及重结晶纯化得到化合物 1(59 mg)、2(45 mg)、3(61 mg)、4(42 mg)、5(71

[作者简介] 邬美玉(1980-),女,本科。Tel:(021)57416150,E-mail:hkchemistry@yahoo.cn.

mg)、6(47 mg)。二氯甲烷部分(220 g)经反复硅胶柱层析,氯仿-甲醇系统(30:1:1)梯度洗脱,再经 Sephadex LH-20 及制备高效液相分离纯化,得到化合物 7(55 mg)、8(62 mg)、9(73 mg)、10(60 mg)。化合物结构如下:



2 结果

化合物 1: 白色针晶(CHCl_3), m. p.: 160 ~ 162 $^{\circ}\text{C}$, Liebermann-Burchard 反应阳性。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm: 5.35 (1H, m, 6-H), 5.30 (1H, m, 22-H), 5.04 (1H, m, 23-H), 3.52 (1H, m, 3-H), 0.7 ~ 2.3 (m, CH, CH_2), 1.02 (3H, d, 21- CH_3), 0.97 (3H, s, 19- CH_3), 0.85 (6H, d, 26- CH_3 , 27- CH_3), 0.82 (3H, 29- CH_3), 0.70 (3H, s, 18- CH_3)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ ppm: 37.27 (1-C),

31.69 (2-C), 71.82 (3-C), 42.33 (2-C), 140.77 (5-C), 121.71 (6-C), 31.88 (7-C), 31.92 (8-C), 50.16 (9-C), 36.15 (10-C), 21.09 (11-C), 39.70 (12-C), 42.33 (13-C), 56.88 (14-C), 24.30 (15-C), 28.24 (16-C), 56.79 (17-C), 12.24 (18-C), 19.81 (19-C), 39.79 (20-C), 21.09 (21-C), 138.30 (22-C), 129.30 (23-C), 51.24 (24-C), 31.92 (25-C), 19.40 (26-C), 21.09 (27-C), 25.40 (28-C), 11.86 (29-C)。化合物 1 与甾甾醇标准品混熔熔点不下降,两者的 R_f 值及 IR 谱相同。根据以上化学性质及波谱数据,并与文献^[4]对照,鉴定为甾甾醇(stigmasterol)。

化合物 2: 白色针状结晶(EtOAc), m. p.: 140 ~ 142 $^{\circ}\text{C}$, EI-MS 提示分子量为 414, IR、 R_f 值与 β -谷甾醇标准品一致,混合熔点不下降,确定为 β -谷甾醇。

化合物 3: 白色粉末(氯仿-甲醇), m. p.: 286 ~ 287 $^{\circ}\text{C}$, Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应呈阳性。IR 中出现 3 400 cm^{-1} 的羟基吸收峰及 1 000 ~ 1 200 cm^{-1} 的苷键吸收峰,与文献报道胡萝卜苷 IR 数据一致。TLC 中(氯仿:甲醇=8:1) R_f = 0.4, 与胡萝卜苷标准品对照,显色一致。因此鉴定该化合物为胡萝卜苷。

化合物 4: 白色结晶, m. p.: 184 ~ 186 $^{\circ}\text{C}$, 质谱显示分子量为 430, 分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_6$, 核磁数据比较文献^[5], 确认化合物 4 为蜂斗菜内酯(Homofukinolide)。

化合物 5: 白色结晶, EI-MS 给出分子量 390, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_6$, 不饱和度为 8, IR (KBr , cm^{-1}): 1 785, 1 145, 1 039 示有 γ 内酯环; 3 100, 1 651, 850 示有双键, 且 1 651 示末端双键。 $^1\text{HNMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ) 中有 5 个甲基信号: 0.89 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.10 (3H, s), 1.75 (3H, s), 1.80 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.91 (3H, s), 其中 1.75 是 20 位甲基, 1.80 是 19 位甲基, 1.91 是乙酰基。5.92 含一个 H 的 qq 峰提示有 $\text{OCOC}(\text{CH}_3)=\text{CHCH}_3$ 存在; 4.62 含两个 H 的三重峰是 12 位 H, 这也说明双键在 11 位; 5.11 含一个 H 的 ddd 峰是 1 位 H; 5.73 含一个 H 的 d 峰 ($J=11.5$ Hz) 是 9 位 H, 1.35 含一个 H 的 ddd 峰是 4 位 H。由 $^{13}\text{CNMR}$ 和 DEPT 数据得知, 分子中有 5 个伯碳, 5 个叔碳, 7 个季碳(内含一个酯羰基碳 $\delta 177.4$, 一个乙酰羰基碳 $\delta 169.9$, 一个和双键共轭的酯羰基碳 $\delta 167.2$, 两个烯键碳 $\delta 147.7$ 和 $\delta 136.6$), $\delta 147.7, 136.6, 128.2$ 和 108.2 说明分子中有两个烯键。这样扣除 3 个羰基, 2 个双键, 一个内酯环, 剩下的两个不饱和度即为两个环。比较文献^[6], 确认化合物 5 为蜂斗菜内酯-B (Bakkenolide-B)。

化合物6:白色针状结晶, m. p. :203 ~ 205 °C, 由HRMS得其的分子量为408. 1596, 分子式为C₂₂H₂₈O₆S, 不饱和度为8。IR (KBr, cm⁻¹): 1 778, 1 173, 1 053 示有 γ 内酯环, 1 743, 1 693, 1 229 示有酯键, 3 057, 1 567, 899, 800 示有双键, 且 1 567, 899 示有末端双键。¹HNMR (500 MHz, CDCl₃, δ) 出现4个甲基信号: 0.89 (3H, d, J=6.5 Hz), 1.10 (3H, s), 2.01 (3H, s) 和 2.36 (3H, s)。其中 2.01 是乙酰基氢, 2.36 是连 s 的甲基氢。5.5 ~ 7.1 间两个双键 H 组成的 AX 系统示有 OCOCH=CH-SCH₃ 存在; 4.65 含两个 H 的三重峰 (J=2.0 Hz) 是 12 位两个 H, 这也说明末端双键在 11 位; 5.15 含一个 H 的 ddd 峰是 1 位 H; 由¹³CNMR 和 DEPT 数据得知, 化合物 6 有 4 个伯碳, 5 个仲碳, 6 个叔碳, 6 个季碳 (内含一个酯羰基碳 δ177.5, 一个乙酰羰基碳 δ169.8, 一个和双键共轭的酯羰基碳 δ165.6, 一个烯键碳 δ152.7, 两个连甲基季碳)。δ152.7, 147.8, 112.5 和 108.2, 4 个烯键碳说明分子中有两个双键。这样扣除 3 个羰基, 2 个双键, 一个内酯环, 剩下的两个不饱和度即为两个环。比较文献^[6], 确认化合物为蜂斗菜内酯-D (Bakkenolide-D)。

化合物 7: 白色针状结晶, m. p. :81 ~ 83 °C。质谱显示相对分子量为 152。EI-MS *m/z* (%): 151 [M-H]⁺ (100), 303 [2M-H]⁺; ¹HNMR (500 MHz, CDCl₃): 9.83 (1 H, s, CHO), 7.04 (1 H, d, H-6), 7.42 (2 H, t, H-2 and H5), 3.97 (3 H, s, OCH₃); ¹³CNMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 190.9 (CHO), 151.7 (C-3), 147.2 (C-4), 129.9 (C-1), 127.5 (C-6), 114.4 (C-5), 108.8 (C-2), 56.1 (OCH₃)。经图谱综合解析, 鉴定该化合物为 4-羟基-3-甲氧基苯甲醛。

化合物 8: 浅褐色粉末 (丙酮), m. p. :340 ~ 342 °C, 盐酸镁粉反应呈阳性。溶于 MeOH 中的 UV (MeOH) λ_{max}: 266, 297, 337 nm。EI-MS *m/z*: 271 [M+H]⁺; ¹HNMR (500 MHz, DMSO-d₆): 6.20 (1 H, d, J=1.4 Hz, 6-H), 6.49 (1 H, s, 8-H), 6.78 (1 H, s, 3-H), 6.93 (2 H, d, J=8.4 Hz, 3, 5-H), 7.93 (2 H, d, J=8.4 Hz, 2, 6-H), 10.61 (2 H, brs, 7, 4-OH), 12.98 (1 H, s, 5-OH)。¹³CNMR (500 MHz, DMSO-d₆): 164.2 (C-2), 102.8 (C-3), 181.7 (C-4), 161.4 (C-5), 98.8 (C-6), 163.7 (C-7), 93.9 (C-8), 157.3 (C-9), 103.6 (C-10), 121.1 (C-1'), 161.2 (C-4'), 115.9 (C-3', 5'), 128.4 (C-2', 6')。以上波谱数据与文献^[7]比较, 鉴定化合物 8 为芹菜素。

化合物 9: 淡黄色粉末 (乙酸乙酯), m. p. :283 ~ 286 °C, 薄层层析 (硅胶 H-CMC 板) 自然光下呈黄

色斑点, NH₃ 熏后更加亮黄醒目。在石油醚-乙酸乙酯 (1:2) 和苯-乙酸乙酯-甲酸 (8:8:0.1) 两个展开系统中的 R_f 值均与木犀草素标准品一致。UV (MeOH) λ_{max}: 268 nm (II 带), 346 nm (I 带), 为黄酮类化合物的特征吸收。IR (KBr) ν_{max}: 3 413 (羟基), 1 653 (芳环共轭基), 1 609 和 1 512 (苯环), 1 443, 1 373, 1 265, 1 164, 1 119, 1 030, 838 等, 与黄酮类化合物吻合。EI-MS *m/z*: 287 [M+H]⁺; ¹HNMR (500 MHz, DMSO-d₆): 6.18 (1H, d, J=1.8 Hz, H-6), 6.45 (1H, d, J=1.8 Hz, H-8), 6.64 (1H, s, H-3), 6.88 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5'), 7.39 (1H, d, J=2.4 Hz, H-2'), 7.40 (1H, dd, J=9.0, 2.4 Hz, H-6'); ¹³CNMR (500 MHz, DMSO-d₆): 164.3 (C-2), 102.8 (C-3), 181.6 (C-4), 161.4 (C-5), 98.8 (C-6), 163.9 (C-7), 93.8 (C-8), 157.2 (C-9), 103.6 (C-10), 118.9 (C-1'), 113.3 (C-2'), 149.8 (C-3'), 145.8 (C-4'), 116.0 (C-5'), 121.4 (C-6')。以上数据与文献^[8]报道的木犀草素一致, 故鉴定化合物 9 为木犀草素。

化合物 10: 黄色粉末, 不易溶于甲醇、氯仿。m. p. :267 ~ 269 °C; UV (EtOH): λ_{max} (ε) = 364 (10 143), 299 (28 317), 200 (17 918); IR (KBr): ν_{O-H} = 3 404 cm⁻¹, ν_{C=O} = 1 684 cm⁻¹, ν_{C=C} = 1 599 cm⁻¹, ν_{CH₂} = 1 392 cm⁻¹, ν_{C-O} = 1 305 cm⁻¹; HR-ESI-MS: *m/z* 271.021 8 [M+Na]⁺ (calcd. 271.021 9), 确定化合物的分子式为 C₁₂H₈O₆。¹HNMR (400 MHz, δ, pyridine-d₅) 和 ¹³C-NMR (100 MHz, δ, pyridine-d₅) 见表 1。

表 1 山莓素的¹HNMR、¹³C-NMR、HMBC 数据

| Position | δ _c | δ _H | HMBC (H C) |
|----------|----------------|----------------|----------------|
| 1 | | | |
| 2 | 160.5 | | |
| 3 | 140.1 | | |
| 4 | 108.0 | 8.01 (1H, s) | 2,3,5,6,7,9,10 |
| 5 | 144.2 | | |
| 6 | 115.5 | | |
| 7 | 141.1 | | |
| 8 | 145.0 | | |
| 9 | 149.3 | | |
| 10 | 113.2 | | |
| 11 | 195.5 | | |
| 12 | 33.0 | 2.52 (2H, m) | 7,11,13 |
| 13 | 23.8 | 3.51 (2H, m) | 7,8,11,13 |

¹HNMR 信号 δ 2.5 (2H, m), δ 3.5 (2H, m), 显示有 -CH₂-CH₂- , ¹³C-NMR 中的信号 (δ 195.5, δ 160.5), 显示有一个 α,β-不饱和酮和 α,β-不饱和酯的存在。¹HNMR (400 MHz, δ, pyridine-d₅) 显示该化

合物含有两组亚甲基氢信号(δ 2.52, δ 3.51), 每组两个氢。HMQC数据显示, 两组氢信号对应的亚甲基碳化学位移分别为 δ 33.0 和 δ 23.8。 ^1H NMR 中氢信号非常少, 可初步估计分子结构是成环状排列。 ^{13}C -NMR 中 110-150 有 6 个峰, DEPT 谱中显示 6 个峰均为季 C, 表示有 6 取代苯环存在。结合相关谱图, 分析出化学结构式, 通过二维谱, 验证其正确性, 根据 HMQC, 可以对化合物的碳氢作进一步的归属。

综上所述, 推断化合物的结构如图 10, 为一新化合物。

3 讨论

山莓作为一种治疗腹泻、咽喉肿痛的草药, 在民间应用广泛。但迄今为止, 对山莓的化学成分和其活性的报道较少。作者对山莓干燥果实提取物进行了化学成分的系统分离, 鉴定了 10 个化合物。化合物 4、5、6、7、8、9 首次从山莓中分离得到, 化合物 10 是新化合物。对所得到的单体化合物的活性测试工作正在进行。

(上接第 273 页)

现出一定的抗抑郁作用, 其活性强度与临床上常使用的抗抑郁药盐酸氟西汀相当。其中异槲皮苷的实验结果与文献报道一致^[8], 而 10% 异槲皮苷芦丁混合物的抗抑郁作用则是本文首次发现。

大多数抑郁症患者生物学改变是由于下丘脑-垂体-肾上腺轴激活, 已证实是促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和皮质醇分泌过多所致。Butterweck 等^[9]的研究发现灌胃给予异槲皮苷 0.6 mg/kg 2 周后其循环血浆中 ACTH 和皮质醇的水平下调 40% ~ 70%。有研究认为异槲皮苷消除体内自由基是中药抗抑郁的部分作用机制^[10]。通过以上研究结合国内外文献报道, 笔者推测异槲皮苷和 10% 异槲皮苷芦丁混合物的抗抑郁作用机制可能如下: ①抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴过度激活, 下调外周血中的 ACTH 和皮质醇的水平, 影响抑郁大鼠脑组织中前额叶 5-羟色胺和多巴胺含量而发挥抗抑郁作用。②异槲皮苷具有一定的抗氧化、抗肿瘤和抗血小板凝集作用, 从而具有一定大脑保护作用, 这些作用可能与其抗抑郁作用机制有关。因此, 异槲皮苷和 10% 异槲皮苷芦丁混合物在抗抑郁方面具有良好的开发前景, 其抗抑郁作用机制方面有待更深入的探讨。

【参考文献】

[1] Steimer W. Pharmacogenetics and Psychoactive Drug Therapy:

【参考文献】

- [1] 董振生, 程天印, 李 丹. 山莓叶化学成分分析及其生物碱的抗菌作用[J]. 畜牧兽医杂志, 2008, 27(6): 25.
- [2] 张 敏. 湘西山莓叶有效成分提取分离结构鉴定及活性研究[D]. 湖南大学, 2006.
- [3] 陈炳华, 余 望, 刘剑秋. 山莓茎叶香豆素成分的初步研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2001, 17(3): 81.
- [4] Feng SL, He L, Wang M, *et al.* Studies on the chemical constituents of Flower of David Lily[J]. China J Chinese Mater Med. 1994, (9): 611.
- [5] Naya K, Hayashi M, Takagi I, *et al.* The structural elucidation of sesquiterpene lactones from *Petasites japonicus* Maxim [J]. Bull Chem Soc Jpn. 1972, 45: 3673.
- [6] Cheng JK. Study on structure of compound isolated from *Petasites tricholobus* France[J]. J Chin pharm. 1999, 34(11): 734.
- [7] 田 菁, 赵毅民, 栾新慧. 马鞭草化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(4): 268.
- [8] 郭 峰, 梁侨丽, 闵知大. 地胆草中黄酮成分的研究[J]. 中草药, 2002, 33(4): 303.

【收稿日期】 2010-10-10

【修回日期】 2011-02-10

Ready for the Patient [J]. Ther Drug Monit. 2010, Aug; 32 (4): 381.

- [2] Xu C, Luo L, Tan RX. Antidepressant effect of three traditional Chinese medicines in the learned helplessness model [J]. Journal of Ethnopharmacology 2004, 91: 345.
- [3] Zhang ZJ. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders [J]. Life Sciences 2004, 75: 1659.
- [4] 俞一心, 戈升荣, 王桂珍. 槲皮素及其衍生物的药理作用研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(12): 902.
- [5] 徐书云, 卞如濂, 陈 修, 等. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 226.
- [6] Doe N, Takahashi T, Kiriya M. Behavioral despair during a water maze learning task in mice [J]. Exp Anim, 2010, 59 (2): 191.
- [7] Jang DP, Lee SH, Lee SY, *et al.* Neural responses of rats in the forced swimming test: [F-18]FDG micro PET study [J]. Behav Brain Res, 2009, 203(1): 43.
- [8] Butterweck V, Jürgenliemk G, Nahrstedt A, *et al.* Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test [J]. Planta Medica 2000, 66: 3.
- [9] Butterweck V, Hegger M, Winterhoff H. Flavonoids of *St. John's Wort* reduce HPA axis function in the rat [J]. Planta Med, 2004, 70(10): 1008.
- [10] 黄黎明, 石 鹏, 孙成荣等. 柴芪口服液抗抑郁作用实验研究[J]. 中国药师, 2009, 12(1): 44.

【收稿日期】 2010-07-21

【修回日期】 2010-12-21