

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.01199

覆盆子二氯甲烷萃取物中的化学成分

游孟涛, 李亚葵, 郭美丽*

第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433

[摘要] **目的:** 研究覆盆子二氯甲烷萃取物的化学成分。**方法:** 利用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱及重结晶等技术提取分离覆盆子化学成分, 用 EI-MS、ES-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR、HMQC 及 HMBC 等光谱方法鉴定化合物结构。**结果:** 得到 10 种化合物, 鉴定其中 9 种化合物, 分别为二十六烷醇(I)、β-谷甾醇(II)、4-羟基-3-甲氧基苯甲醛(III)、对羟基苯甲醛(IV)、齐墩果酸(V)、stigmast-5-en-3-ol, oleate(VI)、1H-2-indenone, 2,4,5,6,7,7a-hexahydro-3-(1-methylethyl)-7a-methyl(VII)、4-羟基-3-甲氧基苯甲酸(IX)、liballinol(X)。**结论:** 化合物 I、III、IV、VI、VII、X 均首次从该植物中分离得到。

[关键词] 覆盆子; 化学成分; 酚; 木质素**[中图分类号]** R 931.71 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)10-1199-04

Study on chemical constituents of methylene chloride extract of *Rubus chingii*

YOU Meng-tao, LI Ya-kui, GUO Mei-li*

Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] **Objective:** To study the chemical constituents of the methylene chloride of *Rubus chingii* Hu. **Methods:** Chromatography on silica gel column, Sephadex LH-20 column, and recrystallization technique were used to isolate and purify the compounds. Spectroscopy methods including EI-MS, ES-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HMQC, and HMBC were used to elucidate the structures of compounds. **Results:** Ten compounds were obtained and 9 compounds were identified as: hexacosanol (I), β-sitosterol (II), 4-hydroxy-3-methylbenzal acid (III), 4-hydroxybenzaldehyde (IV), oleanolic acid (V), stigmast-5-en-3-ol, oleate (VI), 1H-2-indenone, 2,4,5,6,7,7a-hexahydro-3-(1-methylethyl)-7a-methyl (VII), 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (IX), and liballinol (X). **Conclusion:** Compounds I, III, IV, VI, VII, and X have been obtained from *Rubus chingii* for the first time.

[KEY WORDS] *Rubus chingii*; chemical constituents; phenol; lignan

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(10):1199-1202]

华东覆盆子(*Rubus chingii* Hu.)为蔷薇科悬钩子属植物,又名掌叶覆盆子,其近成熟果实入药称为覆盆子,收载于《中国药典》2005年版一部,具有益肾、固精、缩尿之功效,用于肾虚遗尿、小便频数、阳痿早泄、遗精、滑精等^[1]。现代药理学研究显示,覆盆子具有温肾助阳^[2]、免疫调节^[3]、抗炎、抗氧化^[4]和抗衰老^[5]等活性。国内外学者对其化学成分进行一些研究,从中分离出β-谷甾醇、鞣花酸、tiliroside、fupenic acid、乌苏烷型三萜、齐墩果烷型三萜、黄酮类等化合物^[6-9]。但是,并未找到覆盆子温肾助阳药效的物质基础。因此,继续研究覆盆子的化学成分,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。本研究对覆盆子的二氯

甲烷萃取物的化学成分进行了较系统地研究,从中得到 10 种单体化合物,并鉴定其中 9 种化合物。

1 材料和方法

1.1 仪器和材料 柱层析硅胶 H(60 型)为青岛海洋化工集团公司产品, TLC 板(HSGF254)为烟台市化工研究院产品; Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司出品; 显色剂, 10% 硫酸乙醇液, 碘蒸汽, ZF-1 型三用紫外分析仪。所用试剂均为分析纯, 国药试剂。ZMD83-1 型电热熔点测定仪(未校正), 岛津 UV-265 紫外分光光度仪, Bruker-Spectrospin AC-400P 型核磁共振仪及 Bruker AMX-500 型核磁共振仪, Varian MAT-212 型质谱仪。

覆盆子采自浙江省杭州市, 经第二军医大学药

[收稿日期] 2009-05-12 **[接受日期]** 2009-08-26**[作者简介]** 游孟涛, 硕士生, E-mail: manyou82@163.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81871302, E-mail: mlguo@smmu.edu.cn

学院生药学教研室郭美丽教授鉴定为蔷薇科植物华东覆盆子未成熟干燥果实。

1.2 化学成分的提取分离 覆盆子干燥果实 50 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, 合并二氯甲烷萃取液, 减压浓缩, 得浸膏 200 g。将二氯甲烷浸膏进行硅胶柱层析分离, 石油醚乙酸乙酯梯度洗脱, 薄层板跟踪合并流分, 共分得 11 个组分, 组分 2、3、4 反复重结晶分别得到化合物 I (10 mg)、II (150 mg)、III (20 mg); 组分 5 过 LH-20, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱, 得化合物 IV (35 mg); 组分 6 反复硅胶分离, 得化合物 V (30 mg); 组分 7 反复硅胶分离, 洗脱组分用 LH-20 纯化, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱, 得化合物 VI (450 mg)、VII (68 mg); 组分 8 反复硅胶纯化得化合物 VIII (50 mg); 组分 10 反复 LH-20 分离, 分别用氯仿-甲醇(1:1)和甲醇洗脱, 得化合物 IX (90 mg)、X (10 mg)。化合物结构见图 1。

定该化合物为二十六烷醇。

2.2 化合物 II 的结构鉴定 白色针状结晶, m. p. : 140~142°C, EI-MS 提示相对分子质量为 414, ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) 谱具有甾体化合物的普遍特征, δ: 0.7~2.4 为甾体骨架上众多的亚甲基和次甲基信号相互重叠产生。δ: 0.66 和 1.01 的 2 个甲基峰是 C₁₈ 和 C₁₉ 上质子信号, δ: 5.33 为 H-6 典型的烯氢信号。3.53(1H, m, H-3) 为连氧叔碳氢信号。¹³CNMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 140.7(C-5), 121.7(C-6), 71.8(C-3), 56.7(C-14), 55.8(C-17), 50.0(C-9), 45.8(C-4), 42.3(C-13), 39.7(C-12), 37.2(C-1), 36.5(C-10), 36.1(C-20), 33.9(C-7), 31.9(C-8), 31.8(C-22), 31.6(C-2), 29.7(C-24), 29.1(C-25), 28.2(C-16), 26.0(C-28), 24.3(C-15), 23.0(C-27), 21.1(C-11), 19.8(C-26), 19.4(C-19), 19.0(C-27), 18.8(C-21), 12.0(C-29), 11.8(C-18), R_f 值与 β-谷甾醇标准品一致, 混合后熔点不下降, 确定为 β-谷甾醇。

2.3 化合物 III 的结构鉴定 白色针状结晶, m. p. : 81~83°C。质谱显示相对分子质量为 152。EI-MS *m/z* (%) : 151 [M-H]⁺ (100), 303 [2M-H]⁺; ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) : 9.83(1H, s, CHO), 7.04(1H, d, H-6), 7.42(2H, t, H-2 and H-5), 3.97(3H, 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。

2.4 化合物 IV 的结构鉴定 白色针状结晶, m. p. : 115~118°C。EI-MS *m/z* (%) : 121[M-H]⁺ (100), 93(50), 65(63), 39(80); ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) : 9.80(1H, s, CHO), 7.76(2H, d, H-2, H-6), 6.93(2H, d, H-3, H-5); ¹³CNMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 191.4(CHO), 163.1(C-4), 132.4(C-2, C-6), 128.8(C-1), 115.8(C-3, C-5)。与文献^[10]报道一致, 鉴定该化合物为对羟基苯甲醛。

2.5 化合物 V 的结构鉴定 白色粉末, m. p. : 140~142°C。EI-MS *m/z* (%) : 248(100), 133(48), 203(50), 207(46); ¹HNMR(500 MHz, pyridine-d₅) : 5.5(1H, t, H-12), 3.5(1H, t, H-3_α), 2.7(1H, d, H-18), 2.4(1H, m, H-11), 2.2(1H, m, H-11); ¹³CNMR(125 MHz, pyridine-d₅) δ: 180.1(C-28), 139.4(C-13), 125.8(C-12), 78.3(C-3), 56.0(C-5), 53.7(C-9), 48.2(C-17), 42.6(C-19), 40.1(C-14), 39.6(C-18), 39.6(C-8), 39.5(C-4), 39.2(C-1),

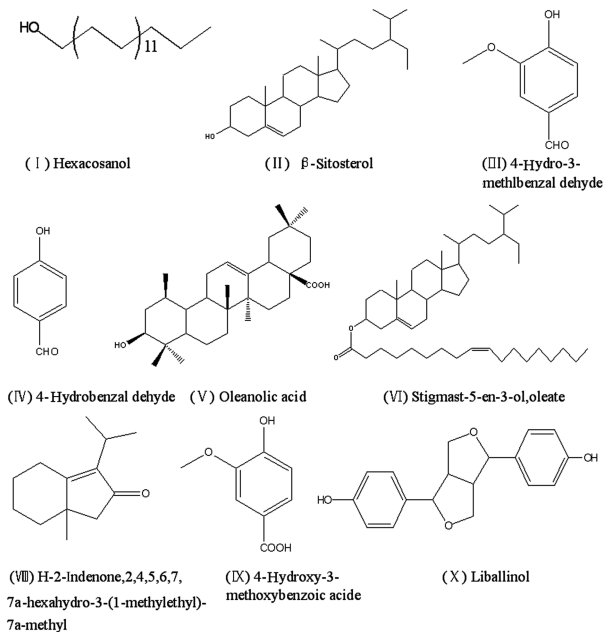


图 1 化合物 I ~ VI、VIII ~ X 结构图

Fig 1 Chemical structures of compounds I - VI, VIII - X

2 结果

2.1 化合物 I 的结构鉴定 白色晶体, m. p. : 73~75°C, EI-MS *m/z* (%) : 43(100), 57(98), 71(60), 85(42), 55(87), 69(80), 83(86), 97(79), 111(50); ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) : 3.64(2H, t, *J* = 7 Hz, H-1), 0.88(3H, t, *J* = 7 Hz, H-26); ¹³CNMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 63.1(C-1), 14.1(C-2), 32.8(C-3), 31.9(C-4)。与文献^[10]报道二十六烷醇数据一致, 鉴

37.6(C-10), 37.4(C-21), 33.7(C-7), 31.2(C-22), 30.1(C-29), 28.9(C-20), 28.8(C-23), 28.2(C-15), 25.0(C-2), 24.0(C-27), 23.8(C-11), 21.5(C-16), 18.9(C-30), 17.7(C-6), 17.6(C-26), 16.7(C-24), 15.8(C-25)。与文献^[11]报道一致, 鉴定该化合物为齐墩果酸。

2.6 化合物Ⅵ的结构鉴定 白色粉末, m. p.: 156~159°C, EI-MS m/z (%): 397(82), 396(100), 381(19), 288(12), 275(13), 255(18), 213(15), 161(22), 147(28), 133(19), 107(21), 95(29), 81(29), 69(28), 44(42); ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) 谱具有β-谷甾醇的普遍特征, δ: 0.7~2.4为甾体骨架上众多的亚甲基和次甲基信号相互重叠产生。δ: 0.66和1.01的两个甲基峰是C₁₈和C₁₉上质子信号, δ: 5.33为6-H典型的烯氢信号, 3.99(1H, m, H-3), 5.46(2H, m, H-9', H-10')。 ¹³C-NMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 39.4(C-1), 29.4(C-2), 79.7(C-3), 38.5(C-4), β-谷甾醇上其余碳信号与化合物Ⅱβ-谷甾醇一致, 175.1(C-1'), 130.6(C-9', C-10'), 35.4(C-2'), 34.7(C-16'), 33.8(C-7', C-12'), 33.5(C-6', C-13', C-14'), 33.1(C-5'), 33.0(C-15'), 29.5(C-4'), 28.2(C-8'), 26.1(C-3'), 23.9(C-17'), 14.1(C-18')与文献^[12]报道一致, 鉴定该化合物为 Stigmast-5-en-3-ol, oleate。

2.7 化合物Ⅶ的结构鉴定 黄色针状结晶, m. p.: 171~173°C, 质谱显示相对分子质量为192, 分子式为C₁₃H₂₀O, EI-MS m/z (%): 192[M]⁺, (100), 177(70), 164(40), 149(58), 121(33), 79(32), 69(55), 51(34)。 ¹HNMR(500 MHz, CD₃OD) δ: 1.11(6H, d, 2×CH₃), 1.28(3H, s, 7a-CH₃), 1.18(1H, m, H-7), 1.27(1H, m, H-6), 1.41(2H, m, H-5, H-6), 1.45(1H, m, H-6), 1.50(1H, m, H-7), 1.95(1H, dd, H-4), 2.07(1H, dd, H-4), 2.57(1H, m, CH); ¹³CNMR(125 MHz, CD₃OD): 202.7(C-2), 162.9(C-8), 138.9(C-3), 55.5(C-1), 48.4(C-7a), 38.1(C-7), 32.1(C-4), 29.7(C-5), 23.5(C-6), 25.9(7a-CH₃), 26.1(3-CH), 22.7(2×3-CH₃)。与文献^[13]报道一致, 鉴定该化合物为 1H-2-indenone, 2,4,5,6,7,7a-hexahydro-3-(1-methylethyl)-7a-methyl。

2.8 化合物Ⅷ的结构鉴定 白色针状结晶, m. p.: 210~213°C, EI-MS m/z (%): 168[M]⁺(100), 153(73), 97(38); ¹HNMR(500 MHz, CD₃OD) δ: 7.53(2H, m, H-2, H-6), 6.82(1H, d, J=8.7 Hz, H-5), 3.88(3H, s, H-8); ¹³CNMR(125 MHz, CD₃OD): 170.3(C-7), 152.9(C-3), 148.9(C-4), 125.5(C-6),

123.4(C-1), 116.1(C-5), 114.1(C-2), 56.7(C-8)。与文献^[14]报道一致, 鉴定该化合物为4-羟基-3-甲氧基苯甲酸。

2.9 化合物Ⅸ的结构鉴定 白色结晶, m. p.: 124~126°C, EI-MS m/z (%): 297[M-H]⁺(100), 298[M]⁺(13); ¹HNMR(500 MHz, pyridine-d₅) δ: 7.19(4H, d, J=10 Hz, H-2, 6, 2', 6'), 6.75(4H, d, J=10 Hz, H-3, 5, 3', 5'), 4.68(2H, d, J=5 Hz, H-7, 7'), 4.19(2H, dd, J=10 Hz, J=10 Hz, H-9, 9'), 3.8(2H, dd, J=10 Hz, J=5 Hz, H-9, 9'), 3.11(2H, m, H-8, 8'); ¹³CNMR(125 MHz, pyridine-d₅): 158.5(C-4, 4'), 133.3(C-1, 1'), 129.0(C-2, 6, 2', 6'), 116.5(C-3, 5, 3', 5'), 87.7(C-7, 7'), 72.8(C-9, 9'), 55.7(C-8, 8')。与文献^[15]报道一致, 鉴定该化合物为 Liballinol。

3 讨论

覆盆子是我国重要的悬钩子属植物, 分布于浙江、江苏、安徽、江西、福建、广西等地。覆盆子药食两用, 含有多种有效成分, 具有多种药理作用, 在保健和临床应用广泛, 尤其是在温肾助阳方面应用很广, 但其有效物质及作用机制尚未明确。因此, 对覆盆子进行深入系统的研究, 有助于阐明其药理活性基础。本研究对覆盆子果实的75%乙醇提取物的二氯甲烷萃取部位进行分离, 得到10种化合物, 鉴定了其中9种化合物, 化合物Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅵ、Ⅷ、Ⅸ均首次从该植物中分离得到, 为覆盆子的深入研究积累了新资料。

研究^[16]显示, 长链脂肪醇具有增强免疫活性, 而且, 二十六烷醇具有很好的抗胆固醇和神经保护活性。长链脂肪醇在一定程度上阐明了覆盆子的免疫调节、血管活性基础。呋喃吡喃木质素显示具有很好的抗肿瘤活性^[17]。酚类成分具有很好的抗氧化活性, 酚类和酚苷类化合物有植物雌激素样活性^[18], 可能与覆盆子的温肾助阳活性有关。本研究分离得到的3种苯取代物皆带有酚羟基。关于这些化合物的温肾助阳的活性与机制, 我们正在进一步研究之中。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 265.
- [2] 陈坤华, 方军, 匡兴伟, 莫启忠. 覆盆子水提取液对大鼠下丘脑-垂体-性腺轴功能的作用[J]. 中国中药杂志, 1996, 21: 560-562.
- [3] 陈坤华, 方军, 宫斌, 莫启忠, 全虹波, 孙万平. 覆盆子水提

取成分促进淋巴细胞增殖作用与环核苷酸的关系[J]. 上海免疫学杂志,1995,15:302-304.

[4] 周 晔,李一峻,陈 强,何锡文,李佩孚,覆盆子等8味中药的抗超氧阴离子自由基作用研究[J]. 时珍国医国药,2004,15:68-69.

[5] 朱树森,张炳烈,李文彬,张 涛,白书阁. 覆盆子对衰老模型小鼠脑功能的影响[J]. 中医学报,1998,26:42-44.

[6] 徐振文,赵娟娟. 覆盆子的化学成分[J]. 中草药,1981,12:19.

[7] Hattori M, Kuo K P, Shu Y Z, Tezuka Y, Kikuchi T, Namba T. A triterpene form the fruits of *Rubus chingii* [J]. Phytochemistry, 1988, 27: 3975-3976.

[8] 郭启雷,杨峻山,刘建勋. 掌叶覆盆子的化学成分研究[J]. 中国药理学杂志,2007,8:1141-1143.

[9] 郭启雷,杨峻山. 掌叶覆盆子的化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2005,2:198-200.

[10] 丛浦珠,苏克曼. 分析化学手册:质谱分析[M]. 北京:化学工业出版社,2000:196-258.

[11] 曾建伟,钱士辉,吴锦忠,杨念云. 薄荷非挥发性成分研究[J]. 中国中药杂志,2006,31:400-402.

[12] Wu J, Li M Y, Xiao Z H, Zhou Y. Butyrospermol fatty acid esters form the fruit of a Chinese mangrove *Xylocarpus granatum* [J]. Zeitschrift für Naturforschung B, 2006, 61: 1447-1449.

[13] Cardeal Z L, Gomes da Silva M D, Marriott P J. Comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometric analysis of pepper volatiles [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2006, 20: 2823-2836.

[14] Yukihiro G, Masaaki S, Ushio S. Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from *Mucuna birdwoodiana* [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35: 2675-2677.

[15] 于德泉,杨峻山. 分析化学手册:核磁共振波谱分析[M]. 北京:化学工业出版社,1999:816.

[16] Borg J, Kesslak P J, Cotman C W. Perihoeral administration of a long-chain fatty alcohol promotes septalcholinergic nervous survival after fimbria-fornix transection [J]. Brain Res, 1990: 295-298.

[17] 赵晨阳,邱 嵘,郑荣梁. 咪喃咪喃木质素的体外抗肿瘤活性 [J]. 兰州大学学报,2000,8:66-68.

[18] Vijayanatayana K, Rashmi S R, Chandrashekhar K S, Subrahmanyam E V. Evaluation of estrogenic activity of alcoholic extracts of rhizomes of *Curculigo orchioides* [J]. Am J Epidemiol, 2006, 163: 9-17.

[本文编辑] 尹 茶

第二军医大学历年获国家级科技成果奖励项目一览(Ⅷ)

2000年3项

国家科技进步奖二等奖3项

危重心脏瓣膜病外科治疗的基础与临床研究

(张宝仁 梅 举 徐志云 于伟勇 王志农 邹良建 朱家麟 韩 林 郎希龙 王连才)

真菌病的基础与临床系列研究

(廖万清 吴绍熙 郭宁如 温 海 吴建华 姚志荣 顾菊林 陈江汉 刘维达 吕桂霞)

颅脑战创伤发病机理与临床救治研究

(江基尧 卢亦成 朱 诚 于明琨 雷 鹏 钱锁开 丁学华 张光霖 梁玉敏)

2002年1项

国家科技进步奖二等奖1项

军队卫生资源利用评价与合理配置研究

(张鹭鹭 扈长茂 张罗漫 陈盛新 郭 强 任真年 毛常学 李捷伟 许 莘)

2003年2项

国家自然科学奖二等奖1项

树突状细胞的抗原提呈、功能调控及其来源的新基因的功能研究 (曹雪涛 章卫平 于益芝 万 涛 李 楠)

国家科技进步奖二等奖1项

镧系元素时间分辨荧光分析技术及仪器的配套研究

(韩 玲 吴寇英 李振甲 陈 杞 赵启仁 戴长生 李美佳 唐晓燕 陈泮藻 游冬青)

2004年1项

国家科技进步奖二等奖1项

四种经血感染病毒的变异、筛查与特异防治基础研究

(戚中田 曹广文 沈倍奋 缪晓辉 任 浩 柯 岫 潘 卫 赵 平 赵兰娟)