

Isolation and Identification of Chemical Constituents from Largeflower Goniothalamus Bark (*Goniothalamus griffithii*)

Hu Zhengbo, Liao Minglong, Li Hang, *et al.* (452 Hospital, Chengdu 610061)

Abstract Five compounds were isolated from the bark of *Goniothalamus griffithii* Hook. f. et Thoms.. Their structures were identified as 5,7,4'-trihydroxy flavanone (I), 10-amino-2,4-dimethoxy phenanthrene-1-carboxylic acid lactam (II), daucosterol (III), β -sitosterol (IV) and sitgmasterol (V) by physicochemical constants and spectral analysis (IR, MS, ^1H NMR, ^{13}C NMR). II was a new compound. I was obtained from this plant for the first time.

Key words *Goniothalamus griffithii* Hook. f. et Thoms. flavanone 10-amino-2,4-dimethoxy-phenanthrene-1-carboxylic acid lactam

两种悬钩子属植物化学成分研究[△]

兰州大学有机化学研究所 应用有机化学国家重点实验室(730000) 王斌贵* 贾忠建

摘 要 首次对紫色悬钩子 *Rubus irritans* Focke 和菰帽悬钩子 *R. pileatus* Focke 的化学成分进行了研究。从其地上部分的乙醇提取物经各种柱层析方法分离纯化分别得到 6 个和 5 个化合物,运用光谱方法和与标准品对照分别鉴定为:2 α ,3 β ,19 α -三羟基乌索-12-烯-28-酸(I),2 α ,3 β ,19 α ,23-四羟基乌索-12-烯-28-酸(II),2 α ,3 β ,19 α ,23-四羟基齐墩果-12-烯-28-酸(III),2 α ,3 β ,19 α ,24-四羟基乌索-12-烯-28-酸(IV),3 β ,19 α -二羟基乌索-12-烯-24,28-二酸(V),乌索酸(VI),齐墩果酸(VII), β -胡萝卜素(VIII)和 β -D-(+)-吡喃果糖(IX)。这些化合物均为首次从该两种植物中分得。

关键词 悬钩子属 紫色悬钩子 菰帽悬钩子 化学成分

蔷薇科悬钩子属 *Rubus* L. 植物现知 700 余种,主要生长在北半球温带,少数分布在热带和南半球。我国有 194 种,南北均有分布,其中以长江以南及西北地区多见^[1]。本属植物有些种类的果实多浆,味甜酸,可供食用,在欧美已长期栽培作重要水果;有些种类的果实、种子、根及叶可入药,常用于治疗急性慢性肝炎、黄胆肝炎、扁桃腺炎、腮腺炎、乳腺炎,以及风湿骨痛、风火头痛、腰腿痛、跌打刀伤等,有些长期用作滋补强壮剂^[2]。

紫色悬钩子 *Rubus irritans* Focke 和菰帽悬钩子 *R. pileatus* Focke 均为悬钩子属植物。前者为矮小半灌木或近草本状,主要分布

于我国甘肃、四川、青海、西藏东南部、印度西北部、可什米尔地区、巴基斯坦、阿富汗,伊朗也有分布,生山坡林缘或灌丛中,海拔 2 000~4 500 m^[1]。后者系攀援灌木,分布于河南、陕西、甘肃、四川等省,生长于海拔 1 400~2 800 m 的沟谷旁、路旁疏林下或山谷阴处密林下^[1]。前文已报道了菰悬钩子中的 3 个新三萜糖酯类化合物^[3]。最近,我们对紫色悬钩子和菰帽悬钩子的化学成分进行了进一步研究,从其地上部分的乙醇提取物分别经硅胶柱层析、制备薄层层析等方法,并配合适当的化学转化方法,共分离得到 11 个化合物,经各种波谱技术(IR、MS、 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、

* Address: Wang Bingui, Institute of Organic Chemistry, National Laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 现在中国科学院昆明植物研究所工作(650204)

王斌贵 1986 年毕业于兰州大学化学系。理学博士,副研究员。主要从事天然抗氧化剂、天然产物化学的研究工作。已在国内外学术刊物上发表研究论文 22 篇,获国家发明专利 2 项。首届“中国科学院王宽诚博士后工作奖励基金”获得者。

[△]国家自然科学基金和兰州大学应用有机化学国家重点实验室资助

DEPT)并结合标样对照,鉴定了它们的结构。其中化合物Ⅰ~Ⅴ及Ⅹ为首次从该属植物中分得,Ⅰ~Ⅴ的化学结构式见图1。

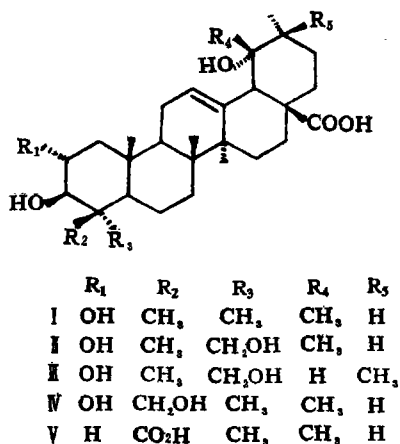


图1 化合物Ⅰ~Ⅴ的化学结构式

1 仪器与材料

XT4-100X 显微熔点仪(温度计未经校正);IR:Nicolet FT-170 SX 红外光谱仪,涂膜式 KBr 压片;EIMS 及 FABMS: HP 5988A GC/MS 或 VG ZAB-HS 质谱仪,70 eV,甘油或硫代甘油做底物;¹H-,¹³CNMR, DEPT: Bruker AM-400 型超导核磁共振仪;柱层析硅胶及薄层层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品;洗脱用溶剂均为分析纯试剂;实验用药材紫色悬钩子和菰帽悬钩子分别于1994年7月和1994年9月采自青海西宁和甘肃漳县,均由兰州大学生物系彭泽祥教授鉴定,植物标本现存放于兰州大学有机化学研究所。

2 提取和分离

干燥的紫色悬钩子地上部分1.5 kg,菰帽悬钩子地上部分2.5 kg 分别粉碎,室温下用重蒸过的工业酒精浸提3次,每次一周时间。合并提取液,减压蒸除溶剂后分别得到120 g 和210 g 浸膏。将紫色悬钩子浸膏加入一定量的热水中,振摇,使其混悬于水中,依次用60℃~90℃石油醚和水饱和的正丁醇各萃取3次,将浸膏粗分为石油醚部分和正丁醇部分。菰帽悬钩子浸膏按相同的方法依次用60℃~90℃石油醚、乙酸乙酯和水饱和

的正丁醇各萃取3次,将浸膏粗分为3部分,即石油醚部分,乙酸乙酯部分,正丁醇部分。

取紫色悬钩子浸膏的正丁醇部分进行硅胶柱层析(160~200 目硅胶),以乙酸乙酯-乙醇-水(25:2:1)开始洗脱,然后逐渐增加极性,薄层检查合并相同部分后得到三个部分。第一部分继续用乙酸乙酯-乙醇(12:1)过硅胶小柱(200~300 目),得到化合物Ⅵ(15 mg);第二部分继续过硅胶柱,用氯仿-甲醇(8:1)洗脱,得到A、B 2个部分。A部分溶于甲醇中,以重氮甲烷甲基化,然后过硅胶小柱纯化,以氯仿-甲醇(12:1)洗脱,得到化合物Ⅰa(10 mg);B部分与经重氮甲烷甲基化,然后反复过硅胶小柱纯化,以氯仿-甲醇(10:1)洗脱,得到化合物Ⅱa和Ⅲa的混合物(15 mg)以及化合物Ⅳa(15 mg);第三部分浓缩放置后即有白色固体物析出,过滤,固形物反复用氯仿洗涤以除去杂质,得到化合物Ⅶ(30 mg)。

菰帽悬钩子乙酸乙酯部分进一步经硅胶柱层析(100~180 目),依次用石油醚-乙酸乙酯(5:2到1:1)及乙酸乙酯-乙醇(30:1到10:1)进行梯度洗脱,薄层检查合并后得到A、B、C、D 4个部分,第一部分(A)主要是色素成分,未继续分离;第二部分(B)用石油醚-乙酸乙酯(4:1)反复进行硅胶柱层析,得到化合物Ⅵ(20 mg)和Ⅶ(20 mg);第三部分(C)进一步经硅胶柱层析分离,然后用制备薄层纯化(氯仿-甲醇,12:1)得化合物Ⅰ(30 mg)。第四部分在薄层板上用多种溶剂系统展开,均呈梭形斑点,经重氮甲烷甲基化后方可呈现清晰圆点,为此,将该部分用重氮甲烷甲基化,用氯仿-甲醇(20:1)为洗脱剂,反复在硅胶柱上层析分离,得化合物Ⅴa(20 mg)。

正丁醇部分过硅胶柱(160~200 目),以氯仿-甲醇-水(60:10:1到10:10:1)梯度洗脱,最后用甲醇冲洗。其中氯仿-甲醇-水40:10:1洗脱部分经多次硅胶柱分离,最后经制备薄层纯化,得化合物Ⅹ(50 mg)。

3 结构鉴定

化合物 I a: 白色无定形粉末, 5% 硫酸-乙醇溶液显紫红色, Liebermann-Burchard 反应呈紫红色, 表明该化合物为三萜类化合物。在薄层层析上其显色情况及 R_f 值与 2α , 3β , 19α -三羟基乌索-12-烯-28-酸(委陵菜酸)标样的甲基化产物一致, 混合熔点不下降, 证明化合物 I a 为 2α , 3β , 19α -三羟基乌索-12-烯-28-甲酯, 相应地, 化合物 I 为 2α , 3β , 19α -三羟基乌索-12-烯-28-酸。

化合物 II a 和 III a: 白色无定形粉末状固体, 5% 硫酸-乙醇溶液显蓝色, Liebermann-Burchard 反应呈紫红色, 表明该化合物为三萜类化合物。尽管在薄层板上用多种溶剂系统反复展开多次仍表现为一个单点, 但从 ^{13}C NMR 谱中可明显地看出这是一对结构极其相似的且含量约为 3:1 的混合物。由于含量不同, 可以容易地区分两者的化学位移。EIMS 给出两者的分子离子峰 m/z 518 $[\text{M}]^+$, 提示它们的分子量均为 518, 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱(见表 1)可确定它们的分子式均为 $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_6$ (7 个不饱和度)。EIMS 除给出分子离子峰外, 还给出系列特征的碎片峰, m/z 500 ($\text{M}-\text{H}_2\text{O}$), 482 ($\text{M}-2\times\text{H}_2\text{O}$), 458 ($\text{M}-\text{HCO}_2\text{CH}_3$), 278, 260, 240, 201, 191, 179, 146 等, 这些碎片有齐墩果-12-烯或乌索-12-烯型三萜类化合物的裂解特征^[4], 且从碎片峰 m/z 240 和 278 可判断在 A/B 环上有 3 个羟基取代, D/E 环上有一个羟基和一个酯甲基取代。 ^{13}C NMR 谱给出酯羰基信号 δ 178.4 ppm 及两对双键特征峰 δ 128.6 (CH), 138.3 (C) 和 δ 124.6 (CH), 142.9 ppm (C), 这两对双键的信号峰提示这两个化合物分别具有乌索-12-烯和齐墩果-12-烯型三萜的碳骨架结构^[5,6], 这进一步验证了上述由质谱裂解规律得出的结论。 ^{13}C NMR 谱中另外的特征信号是连羟基碳的化学位移, 其中 δ 68.3 (CH), 79.0 (CH), 68.6 (CH_2) ppm 是乌索-12-烯型和齐墩果-12-烯型三萜的 A 环上处于 2α , 3β 和 23 位上羟基

取代后产生的连氧碳的化学位移^[7,8], 另外, 碳谱中 δ 73.0 (C) ppm 是乌索-12-烯型三萜 19α 羟基取代后产生的季碳信号^[6,7], 而 δ 81.6 (CH) ppm 则是齐墩果-12-烯型三萜 19α 羟基取代后产生的连氧次甲基信号^[6,8]。上述波谱数据及碳谱中的其它碳的化学位移与文献报道的 2α , 3β , 19α , 23-四羟基乌索-12-烯-28-甲酯^[7]和 2α , 3β , 19α , 23-四羟基齐墩果-12-烯-28-酸^[8]的数据相吻合, 由此确证相应的天然产物, 即化合物 II 和 III 的结构分别为 2α , 3β , 19α , 23-四羟基乌索-12-烯-28-酸和 2α , 3β , 19α , 23-四羟基齐墩果-12-烯-28-酸。

化合物 IV a: 白色无定形粉末状固体, 5% 硫酸-乙醇溶液显蓝色, Liebermann-Burchard 反应阳性, 表明该化合物为三萜类化合物。EIMS 给出分子离子峰 m/z 518 $[\text{M}]$ 及一系列碎片峰 m/z 458, 386, 279, 260, 201, 179, 146 等, 表明该化合物具有齐墩果-12-烯或乌索-12-烯型三萜的碳骨架结构^[4]。 ^{13}C NMR 和 DEPT (见表 1) 示分子中存在 7 个甲基(其中 1 个为甲氧基), 9 个亚甲基(其中 1 个为连氧亚甲基), 8 个次甲基(其中 1 个为双键区次甲基, 2 个为连氧次甲基)和 7 个季碳(其中双键区季碳、连氧季碳及羰基季碳各一个)。 ^{13}C NMR 中 δ 128.6 (CH) 和 138.2 (C) 处的双键信号是乌索-12-烯型三萜的 C_{12} 和 C_{13} 特征峰^[5,6]。另外, 根据质谱裂解规律可以判断在 A/B 环上有 3 个羟基取代, D/E 环上有一个羟基和一个酯甲基取代, 这些连氧信号均可在其 ^{13}C NMR 中找到, 即 δ 69.0 (CH), 85.4 (CH), 73.1 (C) 和 65.6 (CH_2) ppm, 以及位于 δ 178.4 (C) 和 51.6 (CH_3) ppm 处的 28-COOMe 信号。上述波谱数据及碳谱中的其它碳的化学位移值与 2α , 3β , 19α , 24-四羟基乌索-12-烯-28-酸^[9]的文献报道值相比, 其中的 -COOH 基团在 IV a 中变为 -COOMe 基, 而其它信号一致, 由此确定其相应的天然产物, 即化合物 IV 的结构为 2α , 3β , 19α , 24-四羟基乌索-12-烯-28 酸。

表 1 化合物 II a~V a 的¹³CNMR 和 DEPT 数据(δppm,CDCl₃)

II a/II a			Na		Va	
C	δ	DEPT	δ	DEPT	δ	DEPT
1	47.8/47.1	CH ₂	47.2	CH ₂	39.1	CH ₂
2	68.3/68.3	CH	69.0	CH	29.1	CH ₂
3	79.0/79.0	CH	85.4	CH	78.3	CH
4	42.8/43.8	C	43.2	C	49.2	C
5	48.4/48.1	CH	55.8	CH	56.5	CH
6	18.3/18.3	CH ₂	18.4	CH ₂	20.2	CH ₂
7	32.3/32.5	CH ₂	32.9	CH ₂	33.0	CH ₂
8	39.9/39.5	C	39.9	C	39.9	C
9	48.1/48.1	CH	46.3	CH	46.6	CH
10	38.1/38.2	C	38.1	C	37.2	C
11	24.4/28.0	CH ₂	23.9	CH ₂	23.8	CH ₂
12	128.6/124.6	CH	128.6	CH	129.1	CH
13	138.3/142.9	C	138.2	C	139.9	C
14	41.2/41.3	C	41.1	C	41.2	C
15	28.2/29.7	CH ₂	28.1	CH ₂	28.1	CH ₂
16	26.0/23.7	CH ₂	27.4	CH ₂	25.5	CH ₂
17	47.7/46.3	C	47.8	C	47.9	C
18	53.2/45.4	CH	53.1	CH	53.3	CH
19	73.0/81.6	C/CH	73.1	C	73.1	C
20	41.2/34.5	CH/C	41.1	CH	41.1	CH
21	27.3/28.2	CH ₂	25.4	CH ₂	26.0	CH ₂
22	38.1/32.5	CH ₂	37.3	CH ₂	37.3	CH ₂
23	68.6/68.6	CH ₂	22.9	CH ₃	23.6	CH ₃
24	13.1/14.1	CH ₃	65.6	CH ₂	178.4*	C
25	17.0/16.9*	CH ₃	17.3*	CH ₃	13.0	CH ₃
26	16.6/17.0*	CH ₃	17.1*	CH ₃	16.4	CH ₃
27	24.6/24.5	CH ₃	24.6	CH ₃	24.2	CH ₃
28	178.4/178.5	C	178.4	C	178.3*	C
29	27.3/28.4	CH ₃	26.0	CH ₃	27.4	CH ₃
30	16.1/24.5	CH ₃	16.1*	CH ₃	16.1	CH ₃
28-CO ₂ Me	51.6/51.7	CH ₃	51.6	CH ₃	51.1**	CH ₃
24-CO ₂ Me					51.5**	CH ₃

*,** 同一栏中数据可交换

化合物 V a:即化合物 V 经重氮甲烷甲基化后的产物,系白色无定形粉末状固体,5% 硫酸-乙醇溶液显蓝色,Liebermann-Burcard 反应呈阳性,表明该化合物为三萜类化合物。¹³CNMR 及 DEPT 示分子中存 2 个碳原子,包括 8 个甲基(其中 2 个为甲酯基),9 个亚甲基,6 个次甲基(其中一个为连氧次甲基,一个为烯键次甲基),9 个季碳(其中一个为连氧季碳,一个为双键季碳,两个为酯羰基季碳)。¹³CNMR 中位于 δ129.1(CH)和 139.9 ppm(C)处的两个烯键信号表明该化合物具有乌索-12-烯型骨架结构^[5,6],δ51.1(CH₃)和 51.5 ppm(CH₃)是甲酯基信号,而 δ78.3

(CH)和 73.1 ppm(C)则分别是骨架上 C₃ 和 C₁₉位连羟基的信号。上述推论得到¹HNMR 谱的证实。在¹HNMR(CDCl₃)谱中,位于 δ0.69,0.74,1.20,1.25,1.39 ppm(各 3 H, C_{23,25,26,27,29}-H)的 5 个甲基单峰信号和 δ0.93 ppm(3 H,d,J=6.5 Hz,C₃₀-H)的甲基双峰信号以及 δ5.34 ppm(1 H,dr.s,C₁₂-H)的双键信号也表明化合物 V a 具有乌索-12-烯型三萜骨架,而 δ2.58 ppm 处的单峰信号是乌索-12-烯型三萜类化合物的 C₁₉位羟基取代后的 H-18 的特征峰^[10],处于 δ3.36 ppm(H-3α)处的双峰(J=11.9 Hz)提示 3 位氢处于 α 键,与 2β-H 型成 aa 偶合关系,表明 3 位羟基

处于 e 键, 为 β -构型。 ^1H NMR 中其它的特征峰还包括 δ 3.59 和 3.66 ppm 处的两个甲酯基信号。上述波谱数据与 $3\beta, 19\alpha$ -二羟基乌索-12-烯-24, 28-二酸的文献报道值^[10,11]相比, 其中的 24, 28-COOH 基团被 V a 中 COOMe 取代, 而其它碳的化学位移基本保持不变, 因此确定甲基化前的天然产物, 即化合物 V 的结构为 $3\beta, 19\alpha$ -二羟基乌索-12-烯-24, 28-二酸, 是首次从悬钩子属植物中分到。V a 的 ^1H NMR (400 MHz, TMS, CDCl_3), δ ppm: 0.69, 0.74, 1.20, 1.25, 1.39 (各 3 H, s, $\text{C}_{23,25,26,27,29}\text{-H}$), 0.93 (3 H, d, $J=6.5$ Hz, $\text{C}_{30}\text{-H}$), 2.58 (s, 1 H, $\text{C}_{18}\text{-H}$), 3.36 (1 H, dr. d, $J=11.9$ Hz, $\text{C}_{3\alpha}\text{-H}$), 3.59, 3.66 (各 3 H, s, $\text{C}_{24,28}\text{-COOMe}$), 5.34 (1 H, dr. s, $\text{C}_{12}\text{-H}$); ^{13}C NMR 见表 1。

化合物 VI: 白色粉末状固体, mp $286^\circ\text{C} \sim 288^\circ\text{C}$, 5% 硫酸-乙醇溶液显桃红色, Liebermann-Burchard 反应呈紫红色, 表明该化合物为三萜类化合物, 红外光谱示分子中存在羟基 (3420 cm^{-1}), 羧基 (1693 cm^{-1})。其显色情况及薄层层析 Rf 值与乌索酸标样对照相同, 红外叠谱一致, 表明其为乌索酸。

化合物 VII: 白色无定形粉末状固体, 熔点大于 300°C , 5% 硫酸-乙醇溶液显红色, Liebermann-Burchard 反应呈紫红色, 表明该化合物为三萜类化合物。其显色情况及薄层层析 Rf 值与齐墩果酸标样对照相同, 推测化合物 VII 为齐墩果酸。

化合物 VIII: 白色无定形粉末状固体, mp $290^\circ\text{C} \sim 292^\circ\text{C}$, 5% 硫酸-乙醇溶液显红色, 与 β -胡萝卜苷标样显色情况及 Rf 值相同, 两者混合熔点不下降, 证明化合物 VIII 即为 β -胡萝卜苷。

化合物 IX: 淡黄色粉末状固体, 5% 硫酸-乙醇溶液显黑褐色, α -萘酚试剂显蓝色。 ^{13}C NMR (D_2O) 和 DEPT 谱中有 6 个连氧信号, 其中包括一个季碳 (δ 99.3, C_2), 2 个亚甲基 (δ 65.2, C_1 , 64.4, C_6), 3 个次甲基 (δ 70.4, C_3 , 70.9, C_4 , 66.9, C_5)。其碳谱数据与 β -D-(一)-吡喃果糖的文献报道值相符^[12], 确定化合物 IX 为 β -D-(一)-吡喃果糖。

参考文献

- 1 中国植物志编辑委员会编. 中国植物志. 第 37 卷. 北京: 科学出版社, 1985: 61
- 2 江苏新医学院编. 中药大辞典. 上海: 上海人民出版社, 1977: 378, 824, 2699
- 3 Wang B G, *et al.* Phytochemistry, 1997, 46(3): 559
- 4 Budzikiewicz H, *et al.* J Am Chem Soc, 1963, 85(23): 3688
- 5 Seo S, *et al.* J Am Chem Soc, 1981, 103(8): 2075
- 6 Mahato S B, *et al.* Phytochemistry, 1994, 37(6): 1517
- 7 Gao F, *et al.* Chem Pharm Bull, 1985, 33(1): 37
- 8 Mahato S B, *et al.* J Chem Soc Perkin Trans I, 1990, (8): 1445
- 9 Zhou X H, *et al.* Phytochemistry, 1992, 31(10): 3642
- 10 Nakatani N, *et al.* Phytochemistry, 1989, 28(5): 1479
- 11 Hidaka, K, *et al.* Phytochemistry, 1987, 296(7): 2023
- 12 龚运淮. 天然有机化合物 ^{13}C 核磁共振化学位移. 昆明: 云南科技出版社, 1986: 396

(1998-02-23 收稿)

Studies on the Chemical Constituents of Two Species of Raspberry (*Rubus* L.)

Wang Bingui and Jia Zhongjian (Institute of Organic Chemistry, National Laboratory of Applied Organic Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

Abstract Six and five compounds have been isolated respectively from Purple Raspberry (*Rubus irritans* Focke) and Capform Raspberry (*Rubus pileatus* Focke). Based on chemical and spectral evidences, or by comparison with authentic samples, the structures of these compounds were elucidated as 2 α , 3 β , 19 α -trihydroxyurs-12-en-28-oic acid (I), 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid (II), 2 α , 3 β , 19 α , 23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid (III), 2 α , 3 β , 19 α , 24-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid (IV), 3 β , 19 α -dihydroxyurs-12-en-24, 28-dioic acid (V), ursolic acid (VI), oleanolic acid (VII), daucosterol (VIII), and β -D-pyranofructose (IX). All these compounds were isolated for the first time from these two species of *Rubus* L.

Key words *Rubus* L. *Rubus irritans* Focke *Rubus pileatus* Focke