

个烯氢信号; 4.54 (2H, brs, 6-2H)。 ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 12.2 (G-18, G-29), 19.0 (G-21), 19.3 (G-27), 20.0 (G-26), 21.4 (G-11), 21.7 (G-19), 23.5 (G-28), 24.6 (G-15), 26.6 (G-23), 28.6 (G-16), 29.6 (G-25), 30.2 (G-2), 31.0 (G-8), 34.3 (G-22), 36.5 (G-20), 37.4 (G-10), 37.7 (G-1), 40.3 (G-12), 40.8 (G-7), 42.9 (G-13), 46.1 (G-24), 55.1 (G-9), 56.5 (G-1, G-17), 67.6 (G-6), 73.8 (G-3), 130.0 (G-4), 147.2 (G-5)。与文献^[9]中, 3 β , 6 β -豆甾-4-烯-3, 6-二醇的波谱数据对照, 基本一致, 故鉴定化合物 IV 为 3 β , 6 β -豆甾-4-烯-3, 6-二醇。

References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Editio *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 2 (1). Beijing: Science Press, 1993.
- [2] Liu Y X, Zhang S J, Yao Y Y. *Flora in Desertis Reipublicae* *Populorum Sinarum* (中国沙漠植物志) [M]. Tomus 2. Beijing: Science Press, 1987.
- [3] Ma Z J, Li X. Progress on chemistry and pharmacology of *Sphaerophysa* genus [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17(6): 452-455.
- [4] Zhang H D, Zhang S J, Chen Y Z. Chemical studies on *Sphaerophysa salsula* [J]. *J Lanzhou Univ - Nat Sci* (兰州大学学报·自然科学版), 1988, 24(2): 134-135.
- [5] Chen Y Z, Zhang H D, Zhang S M, et al. Chemical studies on *Sphaerophysa salsula* [J]. *J Northwest Pharm* (西北药学杂志), 1987, 2(3): 15-16.
- [6] Ma Z J, Hou B L, Wang J H, et al. Isoflavans from *Sphaerophysa salsula* [J]. *Pharmazie*, 2002, 57(1): 75-76.
- [7] Gong Y H. ^{13}C NMR Chemical Shifts of Natural Organic Compounds (天然有机化合物 ^{13}C 核磁共振化学位移) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Publishing Company, 1986.
- [8] Marina D G, Pietro M, Lucio P. Stigmasterols from *Typha latifolia* [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(6): 1430-1435.
- [9] He A M, Hao H Y, Wang M S, et al. Sterols from *Sedum sarmentosum* [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1997, 28(5): 271-274.

灰毛泡根部的化学成分

刘 戎^{1,2}, 董生¹, 陈能煜², 王明奎^{1*}

(1. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041; 2. 兰州大学 化学系, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 目的 研究灰毛泡根部甲醇提取物的化学成分。方法 用乙酸乙酯萃取, 正相和反相硅胶 (MCI, R_P-18) 柱色谱分离, 并通过波谱技术 (^{13}C NMR, DEPT, ^1H NMR, FAB/MS) 及标准样品对照鉴定结构。结果 分离鉴定了 10 个化合物, 分别为 2 α , 19 α -二羟基-3-羧基乌索-12-烯-28-酸 (I)、2-羧基坡曼酸 (II)、覆盆子酸 (III)、蔷薇酸 (IV)、2 α , 3 α , 19 α -三羟基齐墩果-12-烯-28-酸 (V)、2, 3-*O*-异丙叉蔷薇酸 (VI)、坡曼酸 (VII)、2 α , 3 β -二羟基羽扇豆烷-20(29)-烯-28-酸 (VIII)、儿茶素 (IX) 和胡萝卜苷 (X)。结论 这是首次报道该植物的化学成分。

关键词: 灰毛泡; 化学成分; 三萜

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)05-0394-03

Chemical constituents from root of *Rubus irenaeus*

LIU Rong^{1,2}, DING Li-sheng¹, CHEN Neng-yu², WANG Ming-kui¹

(1. Chengdu Institute of Biology, CAS, Chengdu 610041, China; 2. Department of Chemistry, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: **Object** To investigate the chemical constituents from the methanol extract of the root of *Rubus irenaeus* Focke. **Methods** EtOAc extraction, normal and reverse phase silica gel column chromatography were used for isolation. Spectroscopic methods (^{13}C NMR, ^1H NMR, DEPT, 2DNMR, and FAB-MS) and comparison with authentic samples were used for identification. **Results** Ten compounds were isolated and characterized as 2 α , 19 α -dihydroxy-3-oxo-urs-12-en-28-oic acid (I), 2-oxo-pomolic acid (II), fupenic acid (III), euscaphic acid (IV), 2 α , 3 α , 19 α -trihydroxy-olean-12-en-28-oic acid (V), 2, 3-*O*-isopropylidenyl euscaphic acid (VI), pomolic acid (VII), 2 α , 3 β -dihydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid (VIII), catechin (IX) and daucosterol

* 收稿日期: 2002-08-26

基金项目: 四川省青年科技基金会资助

作者简介: 刘 戎 (1976-), 女, 理学硕士, 现在华南农业大学动物医学系药理研究室工作 (邮编: 510642)。

* 通讯作者 Tel: (028) 5229227 Fax: (028) 5222753 E-mail: mkwang@cib.ac.cn

(X). **Conclusion** These compounds were obtained from this plant for the first time.

Key words: *Rubus irenaeus* Focke; chemical constituent; triterpenoid

灰毛泡 *Rubus irenaeus* Focke 又名地王泡藤, 为蔷薇科悬钩子属植物, 主要分布在江苏、浙江、江西、福建、湖北、湖南、广东、广西、四川、贵州等省, 其根和叶具有理气止痛、散毒生肌等功效^[1]。迄今尚未见对该植物的化学成分报道。我们首次对其根部甲醇提取物的乙酸乙酯萃取部分进行了研究。采用 MCI、硅胶、反相硅胶等柱色谱进行分离, 利用 ¹HNMR, ¹³CNMR, 2DNMR, FAB-MS 等技术, 并结合标准品对照, 鉴定了 10 个化合物, 它们均为首次从该植物中分离得到。

1 植物来源及仪器

植物样品采自重庆市南川金佛山, 由重庆市药物种植研究所刘正宇副研究员鉴定。NMR 谱用 Bruker AG-300 和 Avance DMX-500 仪测定, TMS 为内标, 除化合物 VIII 用 CD₃OD 作溶剂外, 其余均用 CsD₅N 为溶剂; 质谱用 VG 公司 AZB-HS 型质谱仪测定。薄层色谱及柱色谱材料用青岛海洋化工厂生产的硅胶 GF-254, 200~300 目和 170~200 目硅胶。LiChroprep RP-18 分离柱为 Merck 产品, MCI 树脂为三菱化工产品。

2 提取及分离

灰毛泡根部(5.8 kg)粉碎后用工业甲醇室温浸提 3 次, 共 21 d。减压浓缩提取液, 合并后得总浸膏。将浸膏悬浮于水中, 超声波助溶, 滤去不溶物, 用乙酸乙酯萃取 3 次, 得乙酸乙酯浸膏部分 157 g。乙酸乙酯部分过 MCI 树脂柱, 用甲醇-水体系(30%, 50%, 80%), 甲醇-丙酮梯度洗脱, 得到 3 部分: 第 1 部分多为鞣质类化合物; 第 2 部分(50%~80% 甲醇部分) 主要为三萜类化合物; 第 3 部分为甲醇洗脱及丙酮冲柱部分。将第 2 部分分为 7 段, 其中 A, B, D, G 4 段进一步进行了分离。A 段上硅胶柱, 用氯仿-甲醇梯度洗脱, 然后用环己烷-丙酮和 RP-18 分离柱(甲醇水体系) 反复纯化得化合物 III 和 VIII。B 段上硅胶柱, 用石油醚-丙酮(7:1) 反复纯化得化合物 II~V。D 段上硅胶柱, 用氯仿-乙醇梯度洗脱, 再用 RP-18 分离柱, 以 80% 甲醇-水及甲醇洗脱得 I, II 和 VII。G 段上硅胶柱, 用氯仿-乙醇(50:1) 开始梯度洗脱, 再用氯仿-异丙醇反复分离, 经 RP-18 分离柱纯化得化合物 IV, VI, IX 和 X。

3 结构鉴定

化合物 I 和 II 为混合物, 白色粉末。TLC 展开

后用 5% H₂SO₄-乙醇溶液显色为蓝色, FAB-MS 准分子离子峰 509[*M*+*Na*]⁺ 示其两个化合物的相对分子质量均为 486。结合 ¹³CNMR 和 ¹HNMR 谱, 推测其分子式为 C₃₀H₄₆O₅。¹³CNMR 谱中, 部分碳重叠或成对出现, 表明可能为一对混合物。在双键区有 4 个信号: δ127.2, 139.8, 127.0, 139.8, 提示化合物 I, II 为两个 12-烯-乌苏烷型三萜的混合物^[2]。在 ¹HNMR 谱中 80.87~1.76 区域有多个甲基单峰, 也提示该混合物为五环三萜, 其中两个甲基峰是双峰, 进一步说明了化合物 I 和 II 是 19 位有羟基的乌苏烷型三萜。在低场区有 δ216.1, 210.8 两个信号, 对照文献, 分别为 I 的 3 位羰基碳信号^[3] 和 II 的 2 位羰基碳信号^[4], 在 δ60~80 区域的 δ83.1, 72.3, 69.4 3 个羟基碳信号, 说明 I 的位连 α-羟基^[3] I, II 的 19 位连 α-羟基, 及 II 连的 3β-羟基^[4]。δ180.30, 180.2 为二者的 28 位羧基碳信号。与文献的碳谱、氢谱数据对照, 鉴定化合物 I 的结构为 2α, 19α-二羟基-3-羰基-乌索-12-烯-28-酸^[3], II 为 3β, 19α-二羟基-2-羰基-乌索-12-烯-28-酸, 即 2-羰基坡曼酸^[4]。

化合物 III 白色粉末, 紫外灯下显荧光, TLC 展开后用 5% H₂SO₄-乙醇溶液显色为蓝色。根据 FAB-MS [*M*+*H*]⁺ 在 485 的准分子离子峰和 ¹³CNMR 谱推测其分子式为 C₃₀H₄₄O₅。碳谱在双键区的 4 个信号 δ146.3(C), 143.0(CH), 129.5(CH), 127.6(CH), δ201.1 的羰基碳信号, δ180.7 的羧基碳信号和 δ72.7 的 19 位羟基碳信号推测该化合物应为 12-烯-19-羟基乌苏烷型三萜。根据分子式与不饱和度, 化合物 II 应有 5 个氧, 即除 19 位羟基外还应有一个羟基, 但在 δ60~80 区域只出现 G-19 的信号, 而又根据双键区信号 δ129.5(CH), 146.3(C), 羟基则必须连在双键碳上。由于 C, D 和 E 环与化合物 II 的化学位移基本一致, 因此烯醇式结构可能在 1, 2 位碳上, 并由于羰基与相邻烯醇形成了共轭体系而使得此结构可稳定存在。对照文献^[5], 可确定化合物 II 的结构为 2, 19α-二羟基乌索-3-氧-1, 12-烯-28-酸。

化合物 IV 和 V 为混合物, 白色粉末, TLC 展开后用 5% H₂SO₄-乙醇溶液显色为蓝色。根据 FAB-MS *m/z* 511{[*M*+*Na*]⁺} 的准分子离子峰及 ¹³CNMR 和 DEPT 推测它们的分子式均为 C₃₀H₄₈O₅。氢谱

中在 δ 0.80~1.61 区域的多个尖锐单峰为三萜类的特征信号。碳谱峰部分重叠或成对出现,表明可能为一对混合物。在双键区 δ 127.8, 139.8, 144.7(还有一信号被溶剂峰吡啶掩盖),提示 IV 和 V 的 2 位碳的 δ 值(δ 65.9)一致,所以碳信号重合而丰度较高。因此化合物 IV 的结构被确定为 2 α , 3 α , 19 α -三羟基乌苏-12-烯-28-酸即蔷薇酸;化合物 V 的结构为 2 α , 3 α , 19 α -三羟基齐墩果-12-烯-28-酸,这是我们最近从乌泡子根中分离鉴定的 1 个新化合物^[6]。

化合物 VI 白色粉末。¹³CNMR 谱的双键区信号 δ 127.9, 140.0 提示可能为 12-烯乌苏烷型三萜。 δ 83.1, 72.7, 72.1 3 个峰为 3 个连羟基的碳信号, δ 107.1, 29.3, 29.2 提示其有一个缩酮结构信号, VI 可能是 2 α , 3 α 缩酮化产物。经与文献对照^[7],碳谱数据相吻合,因此化合物 VI 鉴定为 2 α , 3 α -缩丙酮

19 α -羟基乌索-12-烯-28-酸即 2,3-*O*-异丙叉蔷薇酸。化合物 VII 为白色粉末。其¹³CNMR 谱与 3 β , 19 α -二羟基乌索-12-烯-28-酸即坡曼酸的数据^[2]吻合。

化合物 VIII 为无色针状晶体。TLC 展开后 5% H₂SO₄-乙醇显色为紫红色。¹³CNMR DEPT 谱显示该化合物中还含有另外一个微量成分。主要成分氢谱在 δ 4.75 和 4.64 有两个宽单峰,提示可能为环外烯质子信号;且在 δ 1.74 处有一宽单峰碳谱中, δ 19.5 (CH₃), 152.0(C), 110.2(CH₂) 为异丙烯基特征峰^[8]。综合以上,主要成分化合物 VIII 可能为一羽扇豆烷型三萜。在 δ 61~85 区域,有 δ 84.4, 69.7 两个连羟基碳信号,低场 δ 179.8 为 28 位羧基碳信号,碳谱数据与 2 α , 3 β -二羟基羽扇豆烷-20(29)-烯-28-酸吻合^[2,9]。化合物 ~ VIII 的¹³CNMR 谱数据见表 1。

表 1 化合物 I ~ VIII 的¹³CNMR 谱数据
Table 1 ¹³CNMR data of compounds I – VIII

碳位	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	碳位	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	49.8	53.4	129.5	42.7	42.4	43.0	39.1	48.2	18	54.5	54.5	54.8	54.4	44.6	54.6	54.7	48.3
2	69.4	210.8	146.3	65.9	65.9	72.1	28.2	69.7	19	72.3	72.3	72.7	72.5	81.0	72.7	72.8	50.4
3	216.1	83.1	201.1	79.2	79.2	83.1	78.3	84.4	20	41.9	42.0	42.5	42.2	35.5	42.2	42.4	152.0
4	47.9	45.4	44.7	38.7	38.7	35.8	39.5	39.6	21	26.7	26.7	27.0	26.7	29.0	26.4	27.2	31.7
5	57.3	54.2	54.2	48.7	48.6	50.4	56.0	56.8	22	38.1	37.5	38.6	38.5	33.1	38.5	37.4	38.1
6	19.2	18.8	19.3	18.4	18.4	18.9	19.0	19.5	23	24.9	29.1	27.8	29.3	28.9	28.7	28.9	29.2
7	32.8	32.8	33.3	33.5	33.3	33.3	33.7	35.4	24	24.2	17.0	22.4	22.1	22.0	24.0	16.9	17.2
8	40.3	41.8	38.4	40.4	40.0	40.4	40.4	40.5	25	17.0	16.4	20.0	16.3	16.4	15.5	15.7	16.6
9	47.0	47.0	43.4	47.4	47.4	47.2	47.9	51.9	26	16.4	17.0	17.6	17.1	17.4	17.1	17.3	19.4
10	37.5	43.3	40.9	38.6	38.3	38.4	37.4	39.6	27	24.3	24.3	24.7	24.6	28.1	24.0	24.8	15.1
11	24.2	23.8	24.0	23.9	24.0	24.5	24.1	22.9	28	180.3	180.3	180.7	180.7	180.5	180.7	180.6	179.8
12	127.2	127.0	127.6	127.8	—	127.9	128.1	26.8	29	26.7	26.7	27.0	26.9	28.7	27.1	27.0	110.0
13	139.8	139.8	140.3	139.8	144.7	140.0	140.0	39.6	30	16.0	15.6	16.8	16.6	24.4	16.8	16.6	19.5
14	42.0	41.8	42.4	42.4	42.7	42.4	42.2	43.6	1'						107.1		
15	29.0	29.1	29.3	29.3	28.9	28.7	29.4	30.8	2'						29.3		
16	26.6	26.0	26.4	26.2	24.6	26.4	26.5	33.3	3'						29.2		
17	47.8	47.8	48.4	48.0	45.8	48.3	48.3	57.3									

化合物 IX: 褐色膨松固体。¹³CNMR δ : 80.1(G-2), 67.0(G-3), 29.7(G-4), 158.6(G-5), 96.7(G-6), 158.7(G-7), 95.8(G-8), 157.6(G-9), 100.2(G-10), 132.2(G-1'), 116.4(G-2'), 146.8(G-3'), 146.9(G-4'), 116.1(G-5'), 119.4(G-6')。与文献对照,确定为儿茶素^[10]。

化合物 X 为白色末,与胡萝卜苷标样多种展开系统的正、反相硅胶 TLC 对照, R_f 值一致,确定该化合物为胡萝卜苷。

References:

[1] Zhang H Y, Zhang Z Y. *Handbook of Chinese Traditional Medicine Resources* (中国中药资源志要) [M]. Beijing: Science Press, 1994.
[2] Mahato S B, Kundu A P. ¹³CNMR spectra of pentacyclic triterpenoids—a compilation and some salient features [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1517-1575.
[3] Xu H, Zeng F, Wan M, *et al.* Anti-HIV triterpene from *Geum japonicum* [M]. *J Nat Prod*, 1996, 59(7): 643-645.
[4] Liu X Q, Jia Z J. Chemical constituents from *Sanguisorba alpina* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1993, 24(9): 451-454.
[5] Hattori M, Kuo K P, Shu Y Z, *et al.* Triterpene from the fruits of *Rubus chingi* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(12): 3975-3976.
[6] Tao Z M, Ding L S, Peng S L, *et al.* Triterpenoid from the roots of *Rubus parkeri* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(2): 99-101.
[7] Chen F Z, He Y H, Ding L S, *et al.* Chemical constituents from fruits of *Rosa sericea* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1999, 34(6): 454-456.
[8] Yao X S. *Natural Medicinal Chemistry* (天然药物化学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
[9] Kuang H, Kasai R, Ohtani K, *et al.* Chemical constituents of pericarps of *Kosadavurica* Pall., a traditional Chinese medicine [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(8): 2232-2233.
[10] Shen C, Chang Y, Ho L. Nuclear magnetic resonance studies of 5, 7-dihydroxyflavonoids [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(3): 843-845.