

杨梅叶降血糖有效部位的化学成分研究

李国成¹, 陈楚雄¹, 罗嘉玲¹, 王定勇^{2*}

1. 中山大学孙逸仙纪念医院, 广东 广州 510120

2. 广东药学院 药科学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 研究杨梅 *Myrica rubra* 叶降血糖有效部位的化学成分。方法 采用柱色谱和薄层色谱分离杨梅叶有效部位中的化学成分; 用 IR、ESI-MS、¹H-NMR、¹³C-NMR 等波谱技术鉴定结构。结果 分离并鉴定了 6 个化合物, 分别为山柰酚(1)、槲皮素(2)、杨梅素(3)、槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷(4)、杨梅苷(5)和杨梅素-3-O- β -D-葡萄糖苷(6)。结论 首次报道杨梅叶降血糖有效部位的化学成分。

关键词: 杨梅叶; 杨梅苷; 槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷; 杨梅素-3-O- β -D-葡萄糖苷; 降血糖作用

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0863-03

Chemical constituents in hypoglycemic active fraction in leaves of *Myrica rubra*

LI Guo-cheng¹, CHEN Chu-xiong¹, LUO Jia-ling¹, WANG Ding-yong²

1. Sun Yat-Sen University Medical Hospital, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510120, China

2. College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Key words: the leaves of *Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.; myricetrin; quercetin-3-O- α -L-rhamnoside; myricetin-3-O- β -D-glucoside; hypoglycemic action

杨梅 *Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc. 系杨梅科杨梅属植物, 主产于我国浙江、江苏、福建、江西、湖南及广东。杨梅鲜果富含糖、果酸及维生素, 能生津止渴, 助消化, 解暑热^[1]; 杨梅树皮具有散瘀止血、止痛之功效, 民间用于治疗跌打损伤、痢疾、十二指肠溃疡等疾病^[2]; 杨梅叶则具有较好的抗菌^[3]、抗氧化^[4]等作用。笔者曾对杨梅树皮进行了系统的化学成分研究^[5], 并分离得到一个具有抗癌活性的新型二芳基庚烷醌类化合物杨梅新醇, 这一成果已获授权专利^[6]。笔者研究发现具有优良的降血糖作用, 并利用四氧嘧啶致糖尿病小鼠模型成功筛选到杨梅叶降血糖活性的有效部位^[7-8]。为阐明其药效物质基础, 本实验对有效部位进行系统的化学成分研究, 从中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为山柰酚(1)、槲皮素(2)、杨梅素(3)、槲皮素-3-O- α -L-鼠李糖苷(4)、杨梅苷(5)和杨梅素-3-O- β -D-葡萄糖苷(6)。

1 仪器与材料

熔点用 XRC-1 显微熔点仪测定(四川大学科仪厂), 温度计未校正; 核磁共振用 Bruker AM-500 型核磁共振仪测定, TMS 为内标; ESIMS 在 HP 1100 LC-MS 上测定。柱色谱用硅胶(200~300 目)、薄层色谱用硅胶(10~40 μ m)均为青岛海洋化工厂生产, Sephadex LH-20 为美国 GE 公司产品。杨梅叶 2009 年 10 月采自广东省阳春市, 由广东药学院中药学院曾令杰教授鉴定为杨梅 *Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc. 的叶。

2 提取与分离

取阴干的杨梅叶 8.5 kg, 粉碎至约 30 目, 用适量甲醇室温浸泡 3 次, 每次 7 d, 合并提取液, 抽滤, 减压回收甲醇得墨绿色黏膏状提取物 220 g。取该提取物 200 g 分散于适量热水中再转移至 2 500 mL 分液漏斗, 先依次用石油醚、氯仿萃取 3 次(每次各用 1 L 溶剂), 去掉低极性化学成分, 再用醋酸乙酯萃取 3 次(每次 1 L), 减压浓缩醋酸乙酯萃取液后得到醋酸乙酯萃取物 65 g。药理实验表明醋酸乙酯

收稿日期: 2010-09-25

基金项目: 广东省科技厅科技计划项目(2009B030801088)

作者简介: 李国成(1968—), 男, 广东增城人, 现任中山大学孙逸仙纪念医院副主任药师, 硕士学位, 主要从事医院药学药品检验研究工作

*通讯作者 王定勇

萃取物即为杨梅叶降血糖有效部位。有效部位经硅胶柱色谱(200~300目),氯仿-甲醇系统(20:1~0:1)梯度洗脱。TLC检测,合并相同组分,共得到6个部分;各部分再经Sephadex LH-20柱色谱、制备薄层色谱等反复分离纯化,得到化合物**1**(25 mg)、**2**(45 mg)、**3**(30 mg)、**4**(18 mg)、**5**(155 mg)和**6**(40 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**:黄色针状晶体(MeOH), mp 275.5~277.0℃。AlCl₃和HCl-Mg试验均显阳性。ESI-MS m/z : 287.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.15 (1H, s, 5-OH), 8.15 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-2', 6'), 7.00 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-3', 5'), 6.54 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 6.26 (1H, J = 2.2 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 176.6 (C-4), 165.0 (C-7), 162.3 (C-5), 160.5 (C-4'), 157.8 (C-9), 146.8 (C-2), 133.5 (C-3), 130.3 (C-2', 6'), 123.0 (C-1'), 116.3 (C-3', 5'), 104.1 (C-10), 99.1 (C-6), 94.5 (C-8)。以上波谱数据与文献报道的山柰酚一致^[9], 故鉴定为山柰酚。

化合物**2**:黄色针状晶体(MeOH), mp 308.0~309.5℃。FeCl₃和HCl-Mg试验均显阳性, Molish反应呈阴性。ESI-MS m/z : 325.1 [M+Na]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.18 (1H, s, 5-OH), 7.81 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 7.68 (1H, dd, J = 8.5, 1.9 Hz, H-6'), 6.99 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.52 (1H, J = 2.0 Hz, H-8), 6.25 (1H, J = 2.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 176.5 (C-4), 164.9 (C-7), 162.6 (C-9), 157.5 (C-5), 148.1 (C-4'), 146.8 (C-2), 145.7 (C-3'), 136.5 (C-3), 123.6 (C-1'), 121.3 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.6 (C-2'), 104.0 (C-10), 99.1 (C-6), 94.3 (C-8)。以上波谱数据与文献报道的槲皮素一致^[10], 故鉴定为槲皮素。

化合物**3**:棕黄色针状晶体(MeOH), mp 324.5~325.0℃。HCl-Mg试验显阳性。ESI-MS m/z : 319.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.51 (1H, s, 5-OH), 7.26 (2H, s, H-2', 6'), 6.37 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.18 (1H, J = 2.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 176.2 (C-4), 164.8 (C-7), 161.3 (C-5), 156.5 (C-9), 146.2 (C-3', 5'), 147.3 (C-2), 136.3 (C-3, 4'), 121.2 (C-1'), 107.7 (C-2', 6'), 103.5 (C-10), 98.6 (C-6), 93.7 (C-8)。以上波谱数据与文献报道的杨梅素一致^[11], 故鉴定为杨梅素。

化合物**4**:黄色粉末, mp 176.8~179.0℃, FeCl₃

和HCl-Mg试验均显阳性, Molish反应呈阳性, 薄层酸水解检测有鼠李糖。ESI-MS m/z : 449.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.61 (1H, s, 5-OH), 7.29 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2'), 7.23 (1H, dd, J = 1.5, 8.5 Hz, H-6'), 6.85 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 6.38 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6), 5.22 (1H, br s, H-1''), 3.78 (1H, br s, H-2''), 3.55 (1H, dd, J = 9.5, 2.8 Hz, H-3''), 3.17 (1H, t, J = 9.5 Hz, H-4''), 3.96 (1H, br s, H-5''), 0.87 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 179.7 (C-4), 165.0 (C-7), 162.3 (C-5), 158.1 (C-9), 157.8 (C-2), 149.5 (C-4'), 146.2 (C-3'), 134.5 (C-3), 121.2 (C-6'), 120.4 (C-1'), 115.4 (C-5'), 115.0 (C-2'), 104.4 (C-10), 102.5 (C-1''), 99.0 (C-6), 94.1 (C-8), 71.8 (C-4''), 71.2 (C-3''), 70.8 (C-2''), 70.5 (C-5''), 18.1 (C-6'')。以上波谱数据与文献报道的槲皮素-3-*O*- α -L-鼠李糖苷一致^[12], 故鉴定为槲皮素-3-*O*- α -L-鼠李糖苷。

化合物**5**:淡黄色片状结晶(MeOH), mp 182.5~184.5℃。HCl-Mg试验和Molish试验均显阳性, 薄层酸水解检测有鼠李糖。ESI-MS m/z : 465.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.68 (1H, s, 5-OH), 6.88 (2H, s, H-2', 6'), 6.36 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.20 (1H, J = 2.1 Hz, H-8), 5.21 (1H, br s, H-1''), 3.76 (1H, br s, H-2''), 3.56 (1H, dd, J = 9.4, 2.9 Hz, H-3''), 3.16 (1H, t, J = 9.5 Hz, H-4''), 3.98 (1H, br s, H-5''), 0.85 (3H, d, J = 6.1 Hz, H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 178.2 (C-4), 164.7 (C-7), 161.9 (C-5), 158.0 (C-9), 156.8 (C-2), 146.2 (C-3', 5'), 136.8 (C-4'), 134.5 (C-3), 121.1 (C-1'), 108.2 (C-2', 6'), 104.4 (C-10), 102.5 (C-1''), 99.1 (C-6), 94.0 (C-8), 71.7 (C-4''), 71.1 (C-3''), 70.8 (C-2''), 70.5 (C-5''), 18.0 (C-6'')。以上波谱数据与文献报道的杨梅苷一致^[13], 故鉴定为杨梅苷。

化合物**6**:黄色颗粒状结晶(MeOH), mp 220.5~221.5℃。HCl-Mg试验和Molish试验均显阳性, 薄层酸水解检测有葡萄糖。ESI-MS m/z : 481.3 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.66 (1H, s, 5-OH), 6.86 (2H, s, H-2', 6'), 6.35 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-6), 6.20 (1H, J = 2.1 Hz, H-8), 5.25 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1''), 4.40 (1H, d, J = 11.3 Hz, H-6''a), 4.20 (1H, dd, J = 11.3, 6.2 Hz, H-6''b), 3.61 (1H, t, J = 6.1 Hz, H-3''), 3.20 (3H, m, H-2'', 4'', 5''); ¹³C-NMR

(125 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.8 (C-4), 165.7 (C-7), 160.9 (C-5), 158.01 (C-9), 157.2 (C-2), 146.1 (C-3', 5'), 137.1 (C-4'), 134.4 (C-3), 121.0 (C-1'), 108.3 (C-2', 6'), 104.5 (C-10), 103.2 (C-1''), 99.2 (C-6), 94.1 (C-8), 71.4 (C-3''), 71.2 (C-4''), 70.6 (C-5''), 70.2 (C-2''), 62.5 (C-6''). 根据以上信息并与化合物 3 的波谱数据对照, 推断该化合物为杨梅素-3-O- β -D-葡萄糖苷。

4 讨论

研究结果表明, 杨梅叶降血糖有效部位的化学成分主要是黄酮类化学成分, 其中以杨梅苷含量最高。近年来, 黄酮类化合物的药理作用日益受到人们的重视, 是当前天然产物化学研究的热点之一。本研究所获得的 6 个化合物中, 杨梅素有优良降血糖活性^[13], 因此它应该在杨梅叶的降血糖作用中扮演重要角色, 至于其他 5 个黄酮类化合物的降血糖作用如何, 化合物之间是否有协同作用, 则有待进一步的研究, 后续工作正在进行当中。

参考文献

- [1] 李兴军, 吕均良, 李三玉. 中国杨梅研究进展 [J]. 四川农业大学学报, 1999, 17(2): 224.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000.
- [3] 莫开菊, 秦恩华, 王俊亮. 杨梅叶提取物抑菌作用研究 [J]. 湖北民族学院学报: 自然科学版, 2008, 26(3): 269.
- [4] 夏其乐, 陈健初, 吴丹. 杨梅叶提取物抗氧化活性的研究 [J]. 食品科学, 2004, 25(8): 80.
- [5] Wang D Y, Liu E G. A new diarylheptanoid from the bark of *Myrica rubra* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(4): 292.
- [6] 王定勇, 臧林泉, 谢启宇, 等. 一种新型天然抗肿瘤活性化合物及其制备方法与应用 [P]. 中国专利: CN101050170, 2007-10-10.
- [7] 陈建国, 梅松, 付颖, 等. 四氧嘧啶致小鼠血糖模型的研究 [J]. 浙江省医学科学院学报, 2005(61): 53-54.
- [8] 张均田. 现代药理实验方法 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998.
- [9] 卢丹, 刘金平, 赵铁军, 等. 穿龙薯蓣地上部分化学成分(III) [J]. 中草药, 2010, 41(7): 700-703.
- [10] 付晓丽, 张立伟, 林文翰, 等. 满山红化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 704-707.
- [11] 廖华卫, 刘恩桂, 王定勇. 杨梅树皮的化学成分研究 [J]. 中南药学, 2006, 4(3): 196.
- [12] 董建勇, 贾忠建. 赶山鞭中黄酮类化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(12): 897.
- [13] Ong K C, Khoo H E. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats [J]. *Life Sci*, 2000, 67(14): 1695.

《中草药》杂志最新佳绩

《中国科技期刊引证报告》2010 年 11 月 26 日发布:《中草药》杂志 2009 年总被引频次 5 631, 名列我国科技期刊第 16 名, 中医中药类期刊第 1 名; 影响因子 0.627, 基金论文比 0.620, 他引率 0.890, 权威因子 2 202.980; 连续 6 年(2005—2010 年)荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。

《中草药》杂志 2009 年 12 月荣获“新中国 60 年有影响力的期刊”, 执行主编陈常青研究员荣获“新中国 60 年有影响力的期刊人”。

《中草药》杂志荣获第二届中国出版政府奖, 中国出版政府奖是国家新闻出版行业的最高奖, 第二届中国出版政府奖首次设立期刊奖,《中草药》等 10 种科技期刊获此殊荣。2011 年 3 月 18 日于北京举行了盛大的颁奖典礼。